

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

SYNTHÈSE DE MODÈLES GLYCO(CYCLO)PEPTIDOMIMÉTIQUES
DE L'ACIDE D-GLUCURONIQUE

MÉMOIRE
PRÉSENTÉ
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN CHIMIE

PAR
CATHERINE SAUCIER

DÉCEMBRE 2013

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.01-2006). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

REMERCIEMENTS

J'aimerais tout d'abord remercier le Professeur Roy de m'avoir accueillie dans son laboratoire et de m'avoir permis de faire mon projet de fin d'études et deux stages d'été avant même le début de ma maîtrise à l'automne 2011. J'ai apprécié toutes ces expériences et j'en ai profité pour apprendre et évoluer dans un milieu scientifique motivant. J'ai aimé devoir relever le défi consistant à affronter les difficultés reliées aux sucres et aux couplages peptidiques souvent exploités durant ma maîtrise. J'aimerais d'ailleurs remercier le Pr. Roy pour l'encadrement dont j'ai pu profiter durant ces années.

J'aimerais remercier particulièrement mon ami Jacques Rodrigue, le premier membre du laboratoire à m'avoir encadrée lorsque j'ai débuté mon projet de fin d'études en 2009. J'ai beaucoup appris auprès de lui et je ne me suis pas autant amusée après son départ. Yoann M. Chabre, Tze Chieh Shiao et Rabindra Rej ont été les trois membres du laboratoire à être les plus sollicités par mes questions dès le début de ma maîtrise et encore aujourd'hui alors que je rédige ce mémoire. Je les remercie pour leur patience et leur dévouement. Mis à part ces quelques personnes, j'aimerais remercier tous les autres membres du Laboratoire Roy, qu'ils aient été des stagiaires ayant séjourné quelques mois chez nous, des étudiants gradués ou encore des stagiaires post-doctoraux. Aussi, je remercie les différentes personnes qui m'ont aidée lors de mes analyses RMN et MS, soient Alexandre Arnold et Leanne Ohlund respectivement, de même que les évaluateurs externe et interne ; Professeur Biron et Professeur Canesi.

Merci aux personnes que j'ai côtoyées pendant mes études sous-graduées et pour qui ma réussite importait. Cela inclut certains professeurs, mais surtout mes ami(e)s avec qui j'ai traversé des périodes de stress difficiles.

Mes remerciements s'étendent maintenant à mon entourage. Merci à mes colocs et mes ami(e)s pour leur soutien de toutes formes. Je ne les nomme pas tous, évidemment, mais je sais qu'ils se reconnaîtront. Merci à mon amoureux, ma sœur, mes oncles et tantes, mon cousin et mes cousines ainsi qu'au reste de la famille. Merci dans certains cas pour l'hébergement, mais aussi et surtout pour les encouragements et le soutien moral. J'ai une pensée particulière pour mon oncle François J. Saucier, décédé avant même le début de mes études universitaires. Il était et reste un grand scientifique. J'aurais apprécié sa présence et sa motivation durant les dernières années comme ce fut le cas avant son départ. Finalement, le soutien sous toutes les formes dont ont fait preuve mes parents m'amène à leur dédier ce document. Sans eux, je n'aurais pas réussi. Ils m'ont permis de faire les études que je voulais et m'ont encouragée à y mettre tous les efforts nécessaires. Merci énormément.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES	vi
LISTE DES SCHÉMAS	ix
LISTE DES TABLEAUX.....	xii
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	xiii
RÉSUMÉ	xvii
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I	
CHIMIE DES PEPTIDES.....	4
1.1 Les acides aminés.....	4
1.2 Les peptides	8
1.3 Les peptides cycliques	11
CHAPITRE II	
CHIMIE <i>CLICK</i>	22
2.1 Généralités et mécanisme.....	22
2.2 Quelques antécédents illustrant l'étendue de la chimie <i>click</i>	27
2.3 Exemples de triazoles en remplacement d'un amide dans des peptides cycliques	30
CHAPITRE III	
ACIDES AMINÉS GLUCIDIQUES CYCLIQUES.....	33
3.1 Objectifs du présent projet.....	43
CHAPITRE IV	
SYNTHÈSES PARALLÈLES DE L'ACIDE 2,3,4-TRI- <i>O</i> -ACÉTYL-1-AZOTURE-1-DÉSOXY- β -D-GLUCUPYRANURONIQUE 61 ET DES PEPTIDES PROPARGYLÉS	45
4.1 Synthèse et études structurales de l'acide 2,3,4-tri- <i>O</i> -acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucupyranuronique 61	45
4.1.1 Synthèse.....	45
4.1.2 Études structurales de 61	50
4.2 Synthèse des peptides propargylés	53
4.2.1 Séquence mono-peptide L-Phe et dipeptides L/D-Ala-L/D-Phe.....	54

4.2.2 Séquence dipeptides et tripeptides (L-Ala)-L/D-Pro-L-Phe.....	56
CHAPITRE V	
COUPLAGES DES PEPTIDES PROPARGYLÉS ET DE L'ACIDE 2,3,4-TRI-O- ACÉTYL-1-AZOTURE-1-DÉSOXY- β -D-GLUCOPYRANURONIQUE 61	65
5.1 Séquence mono peptide L-Phe et dipeptides L/D-Ala-L/D-Phe	65
5.2 Séquence dipeptides et tripeptides (L-Ala)-L/D-Pro-L-Phe	69
CHAPITRE VI	
CYCLISATIONS PAR LA <i>CLICK CHEMISTRY</i>	73
6.1 Cyclisations et analyses CL-SM	73
6.1.1 Séquence mono peptide L-Phe et dipeptides L/D-Ala-L/D-Phe	73
6.1.2 Séquence dipeptides et tripeptides (L-Ala)-L/D-Pro-L-Phe	85
6.2 Analyses des résultats des cyclisations	87
CONCLUSION	93
CHAPITRE VII	
PARTIE EXPÉRIMENTALE	95
7.1 Généralités	95
7.1.1 Produits, solvants, suivis de réaction et purifications	95
7.1.2 Analyses physico-chimiques	96
7.2 Procédures et caractérisation	97
7.2.1 Synthèse de l'acide 2,3,4-tri-O-acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D- glucopyranuronique 61	97
7.2.2 Synthèse des peptides propargylés	102
7.2.3 Couplages du sucre et des peptides et cyclisations par <i>click chemistry</i>	111
ANNEXE A	
TABLEAU DES AIRES DES SIGNAUX DES CL-SM	132
LISTE DES RÉFÉRENCES	133

LISTE DES FIGURES

Figure	Page
1.1 Structures du Sandostatin (5) et de l'analogue β -aminé (6).....	14
1.2 Structure de l'hexadepsipeptide cyclique LI-F04a (7).....	15
1.3 Structure du depsipeptide de la San A (8) et de la version peptide de la San A (9).	16
1.4 Structure de la (-)-tamandarin A (18).	18
2.1 Structure du dimère Smac 36 et de deux dérivés.....	32
3.1 Structure de quelques-uns des acides aminés glucidiques répertoriés.....	34
3.2 Structures d'un polypeptide cyclique 39 composé de la partie active de la Somatostatine, de l'acide aminé glucidique 40 incorporé dans la structure de ce dernier et du composé 41 résultant du remplacement de deux acides aminés.....	35
3.3 Acide aminé glucidique (42) incorporé dans la structure d'un dérivé de la Somatostatine et analogue 43 résultant.....	36
3.4 Structure de l'analogue cyclique et glucidique du RGD (44).....	37
3.5 Structures de la Gramicidine S (45) et de son analogue glucidique (46).....	38
3.6 Structures de l'analogue optimisé.....	39
3.7 Acides aminés glucidiques cycliques.	40
3.8 Section du VEGF-D visé par les auteurs.	41
3.9 Structures des analogues glucidiques du VEGF-D 50 étudiés.....	42
3.10 Structure générale et schématisée des composés visés par le présent projet.	43
4.1 Spectre IR de l'acide 2,3,4-tri- <i>O</i> -acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique 61.	51
4.2 Structures et interactions impliquées selon l'anomère α (62) ou β (61).	51
4.3 Spectre RMN- ¹ H de l'acide 2,3,4-tri- <i>O</i> -acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique 61.	52
4.4 Courbe de Karplus.	53

4.5	Conformations 1C_4 et 4C_1 de l'acide 2,3,4-tri- <i>O</i> -acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique 61	53
4.6	Spectre IR et RMN- 1H du composé Boc-L-Ala-L-Phe-prop 68	59
4.7	Spectre RMN- 1H du composé Boc-L-Ala-L-Pro-L-Phe-prop 80	60
4.8	Structures <i>cis</i> et <i>trans</i> du composé Boc-L-Ala-L-Pro-L-Phe-prop (80) selon une modélisation 3D et une représentation chimique.....	61
4.9	Spectres RMN- 1H à TP (en haut) et à 125°C (en bas) du composé Boc-L-Ala-L-Pro-L-Phe-prop 80	62
4.10	Agrandissement des spectres RMN- 1H du composé Boc-L-Ala-L-Pro-L-Phe-prop 80 de TP à 125°C.....	63
5.1	Spectres IR et RMN- 1H de 86	66
5.2	Spectres IR et RMN- 1H de 87	67
5.3	Spectres IR et RMN- 1H de 92	72
6.1	Chromatogramme CL-SM de la cyclisation de 86	74
6.2	Spectres de masse des deux signaux du chromatogramme de la Figure 6.1 (le premier à 9.05 minutes et le second à 9.35 minutes).	75
6.3	Spectres de masse annotés des deux signaux du chromatogramme de la Figure 6.1. ..	76
6.4	Chromatogramme CL-SM annoté de la cyclisation de 86	77
6.5	Structure du monomère et du dimère cycliques 95 et 96	78
6.6	Spectres RMN- 1H et -TOCSY du composé isolé suite à la <i>click</i> sur 87	79
6.7	Structure du monomère et du dimère cycliques 97 et 98	80
6.8	Chromatogramme CL-SM de la cyclisation de 87	81
6.9	Spectres de masse annotés correspondants aux chromatogrammes de la Figure 6.8. ..	82
6.10	Chromatogramme CL-SM annoté de la cyclisation de 87	83
7.1	Chromatogramme CL-SM de la cyclisation de 86 (95).....	112
7.2	Chromatogramme CL-SM de la première cyclisation de 87 , premier produit (97a-1).	115
7.3	Chromatogramme CL-SM de la première cyclisation de 87 , deuxième produit (97a-2).	116
7.4	Chromatogramme CL-SM de la deuxième cyclisation de 87 (97b).....	116

7.5	Chromatogramme CL-SM de la troisième cyclisation de 87 (97c)	117
7.6	Chromatogramme CL-SM de la quatrième cyclisation de 87 (97d)	117
7.7	Chromatogramme CL-SM de la première cyclisation de 89 (100a)	119
7.8	Chromatogramme CL-SM de la deuxième cyclisation de 89 (100b)	120
7.9	Chromatogramme CL-SM de la première cyclisation de 90 (101a)	121
7.10	Chromatogramme CL-SM de la deuxième cyclisation de 90 (101b)	122
7.11	Chromatogramme CL-SM de la cyclisation de 88 (99)	124
7.12	Chromatogramme CL-SM de la première cyclisation de de 91 (102a)	125
7.13	Chromatogramme CL-SM de la deuxième cyclisation de de 91 (102b)	126
7.14	Chromatogramme CL-SM de la cyclisation de 92 (103)	128
7.15	Chromatogramme CL-SM de la cyclisation de 93 (104)	129
7.16	Chromatogramme CL-SM de la cyclisation de 94 (105)	131

LISTE DES SCHÉMAS

Schéma	Page
1.1 Mécanisme général de protection d'une amine (A).....	9
1.2 Mécanisme de protection d'une amine (A) par Boc ₂ O.....	9
1.3 Mécanisme de déprotection d'un Boc-NH-R (B) en conditions acides.....	10
1.4 Mécanisme de l'activation d'un acide (B) et d'un couplage peptidique.....	10
1.5 Cyclisation d'une tri-L-Proline 1 <i>cis</i> vs <i>trans</i>	12
1.6 Cyclisation d'un tripeptide 3 <i>cis</i> vs <i>trans</i>	13
1.7 Synthèse du dérivé 17 de la San A (8).....	16
1.8 Synthèse de la (-)-tamandarin A (18).	19
1.9 Schématisation de la synthèse du cyclothéonamide B (19).	20
2.1 Formation d'un triazole sans catalyseur (Huisgen) et avec catalyseur (<i>click</i>).....	23
2.2 Chimie <i>click</i> en présence d'iodure.....	24
2.3 Chimie <i>click</i> version ruthénium (RuAAC).	24
2.4 Chimie <i>click</i> catalysée avec Cu(MeCN) ₄ BF ₄ assistée par TBTA.....	25
2.5 Mécanisme de la <i>click</i>	26
2.6 Séquence synthétique illustrant l'étendue de la chimie <i>click</i> et une variation de solvant selon la solubilité.....	28
2.7 Séquence synthétique illustrant l'étendue de la chimie <i>click</i> dans le domaine des dendrimères.	29
2.8 NOAC catalysée au ruthénium ou au cuivre.	30
2.9 Formation d'un cyclotérapeptide par <i>click</i> (35) au lieu d'un couplage peptidique (33)	31
4.1 Protection de l'acide et des hydroxyles avec I ₂ et Ac ₂ O.....	46
4.2 Premières méthodes d'installation de l'azoture.	46

4.3	Mécanisme de la formation de l'intermédiaire lactone 59 avec l'acide en position 6 et SnCl ₄ en tant qu'acide de Lewis.	47
4.4	Équilibres impliquant l'installation de l'azoture en α ou en β	47
4.5	Mécanisme de l'installation stéréosélective de l'azoture en β par assistance anchimérique sur la face α	48
4.6	Mécanisme de l'installation de la protection allylique sur 57	49
4.7	Voie de préparation de l'acide 2,3,4-tri- <i>O</i> -acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique 61 (Conditions 1 : CH ₂ =CHCH ₂ OH, DCC, pyridine, DCM ; Conditions 2 : 1. THF/H ₂ O puis 2. a) (COCl) ₂ , pyridine, DMF, DCM, b) CH ₂ =CHCH ₂ OH).	50
4.8	Synthèse des peptides propargylés Boc-L-Phe-prop 66 , Boc-L-Ala-L-Phe-prop 68 et Boc-L-Ala-L-Ala-L-Phe-prop 70 et de leur version déprotégée 67 , 69 et 71	55
4.9	Synthèse du peptide propargylé Boc-D-Ala-L-Phe-prop 72 et de sa version déprotégée 73	55
4.10	Synthèse des peptides propargylés Boc-D-Phe-prop 74 et Boc-L-Ala-D-Phe-prop 76 et de leur version déprotégée 75 et 77	56
4.11	Synthèse des peptides propargylés Boc-L-Pro-L-Phe-prop 78 et Boc-L-Ala-L-Pro-L-Phe-prop 80 et de leur version déprotégée 79 et 81	57
4.12	Synthèse de la Boc-D-Pro, des peptides propargylés Boc-D-Pro-L-Phe-prop 82 et Boc-L-Ala-D-Pro-L-Phe-prop 84 et de leur version déprotégée 83 et 85	58
5.1	Couplage peptidique entre l'acide 2,3,4-tri- <i>O</i> -acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique 61 et L-Phe-prop 67	65
5.2	Couplage peptidique entre l'acide 2,3,4-tri- <i>O</i> -acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique 61 et L-Ala-L-Phe-prop 69	67
5.3	Couplage peptidique entre l'acide 2,3,4-tri- <i>O</i> -acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique 61 et L-Ala-L-Ala-L-Phe-prop 71	68
5.4	Couplage peptidique entre l'acide 2,3,4-tri- <i>O</i> -acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique 61 et D-Ala-L-Phe-prop 73	69
5.5	Couplage peptidique entre l'acide 2,3,4-tri- <i>O</i> -acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique 61 et L-Ala-D-Phe-prop 77	69
5.6	Couplage peptidique entre l'acide 2,3,4-tri- <i>O</i> -acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique 61 et L-Pro-L-Phe-prop 79	70
5.7	Couplage peptidique entre l'acide 2,3,4-tri- <i>O</i> -acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique 61 et L-Ala-L-Pro-L-Phe-prop 81	70

5.8	Couplage peptidique entre l'acide 2,3,4-tri- <i>O</i> -acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucupyranuronique 61 et D-Pro-L-Phe-prop 83	71
5.9	Couplage peptidique entre l'acide 2,3,4-tri- <i>O</i> -acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucupyranuronique 61 et L-Ala-D-Pro-L-Phe-prop 85	71
6.1	Cyclisation <i>click</i> de 86	74
6.2	Cyclisation <i>click</i> de 87	78
6.3	Cyclisation <i>click</i> de 88	84
6.4	Cyclisation <i>click</i> de 89	84
6.5	Cyclisation <i>click</i> de 90	85
6.6	Cyclisation <i>click</i> de 91	85
6.7	Cyclisation <i>click</i> de 92	86
6.8	Cyclisation <i>click</i> de 93	86
6.9	Cyclisation <i>click</i> de 94	86

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Page
1.1 Acides aminés naturels (noms, symboles à trois lettres, symboles à une lettre et structures).	5
1.2 Listes des acides aminés non-essentiels et essentiels.	7
6.1 Ratios des composés observés après la cyclisation <i>click</i>	88
A.1 Aires des signaux des chromatogrammes CL-MS.....	132

LISTE DES ABRÉVIATIONS

α	Alpha
AA	Acide aminé
$[\alpha]_D^T$	Alpha D à la température T
Ac	Acétyle
Ac ₂ O	Anhydride acétique
ACN	Acétonitrile
AcOEt	Acétate d'éthyle
ACS	American Chemical Society
arom	Aromatique
β	Bêta
BF ₃ (OEt ₂)	Éthérate de trifluorure de bore
Boc	<i>tert</i> -Butoxycarbonyle
BOP-Cl	<i>Bis</i> -(2-oxo-3-oxazolidinyl)phosphorodiamidic chloride
<i>c</i>	Concentration (g/100mL)
Cbz	Carboxybenzyle
CCM	Chromatographie sur couche mince
CDI	1,1'-Carbonyl-diimidazole
CH ₅₀	Concentration provoquant 50% de toxicité
CHCl ₃ (CDCl ₃)	Chloroforme (chloroforme deutéré)
CI ₅₀	Concentration provoquant 50% d'inhibition
CL-SM	Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse
(COCl) ₂	Chlorure d'oxalyle
CuAAC	<i>Copper-Catalysed Azide-Alkyne Cycloaddition</i>
CuBr	Bromure de cuivre
CuCl	Chlorure de cuivre

CuI	Iodure de cuivre
CuOAc	Acétate de cuivre
Cu(PPh ₃) ₃ Br	Bromure de cuivre tris-(triphénylphosphine)
CuSO ₄	Sulfate de cuivre
δ	Déplacement chimique
DCC	Dicylohexylcarbodiimide
DCM	Dichlorométhane
DEPBT	3-(Diéthoxyphosphoryloxy)-1,2,3-benzotriazin-4(3 <i>H</i>)-one
DIPEA	<i>N,N'</i> -Diisopropyléthylamine
DMF	<i>N,N</i> -Diméthylformamide
DMSO (DMSO- <i>d</i> ₆)	Diméthylsulfoxyde (diméthylsulfoxyde deutéré)
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDC	<i>N</i> -(3-Diméthylaminopropyl)- <i>N'</i> -éthylcarbodiimide hydrochloré
EDTA	Acide éthylène diamine tétraacétique
ESI-SMHR	<i>Electrospray Ionization</i> (ionisation par électronébuliseur) couplée à la spectrométrie de masse haute résolution
EP	Éther de pétrole
éq.	Équivalent
fus	Fusion
h	Heure
H ₂ O	Eau
H ₂ SO ₄	Acide sulfurique
HATU	(7-Azabenzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium hexafluorophosphate
HCl	Acide chlorhydrique
HOBt	1-Hydroxybenzotriazole
HOMO	<i>Highest Occupied Molecular Orbital</i> (orbitale moléculaire la plus haute occupée)
HPLC	<i>Hight Performance Liquid Chromatography</i> (chromatographie en phase liquide à haute performance)
I ₂	Iode (diiodé, iodine)

IBCF	Isobutylchloroformate
IR	Infrarouge
J	Constante de couplage
K_2CO_3	Carbonate de potassium
kcal/mol	Kilocalorie par mole
$KHSO_4$	Bisulfate de potassium
kJ/mol	Kilojoule par mole
$KMnO_4$	Permanganate de potassium
LC-MS-TOF	<i>Liquid Chromatography Mass Spectrometry Time of Flight</i>
LiOH	Hydroxyde de lithium
Litt	Littérature
LUMO	<i>Lowest Occupied Molecular Orbital</i> (orbitale moléculaire la plus basse inoccupée)
m/z	Rapport masse sur charge
M	Unité de concentration (molarité, mol/L)
MeOH	Méthanol
mg	Milligramme
$MgSO_4$	Sulfate de magnésium
MHz	MégaHertz
min	Minute
mL	Millilitre
mmol	Millimole
Na	Sodium
Na ^{asc}	Ascorbate de sodium (version Na de la vitamine C)
$Na_2S_2O_3$	Thiosulfate de sodium
NaCl	Chlorure de sodium
$NaHCO_3$	Bicarbonate de sodium
NaOH	Hydroxyde de sodium
NMM	<i>N</i> -méthylmorpholine
NOAC	<i>Nitrile oxide-alkyne cycloaddition</i>
$Pd(PPh_3)_4$	Tétrakis(triphénylphosphine) de palladium

PFP	Pentafluorophénol
Ph	Phényl
R_f	Rapport frontal
RGD	Séquence des 3 AA Arg-Gly-Asp
RMN	Résonance magnétique nucléaire
RMN- ^1H	RMN du proton
RMN- ^{13}C	RMN du carbone
RMN-COSY	RMN <i>CORrelated SpectroscopY</i>
RMN-HETCOR	RMN <i>HEteronuclear CORrelation</i>
RMN-HMQC	RMN <i>Heteronuclear Multiple Quantum Coherence</i>
RMN-TOCSY	RMN <i>TOTal Correlation SpectroscopY</i>
RuAAC	<i>Ruthenium-Catalysed Azide-Alkyne Cycloaddition</i>
SAA	<i>Sugar amino acid</i> (acide aminé glucidique)
SnCl_4	Tétrachlorure d'étain
T	Température
$T^\circ_{\text{décomposition}}$	Température de décomposition
T°_{fus}	Température de fusion
TBTA	Tris[(1-benzyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)méthyl]amine
TBTU	2-(1H-Benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tétraméthylaminium tétrafluoroborate
TEMP	Tomographie par émission mono-photonique
TFA	Acide trifluoroacétique
THF	Tétrahydrofurane
TIPS	Triisopropylsilyle
TMSN_3	Azoture de triméthylsilyle
TOF-MS	<i>Time of Flight Mass Spectrometry</i>
TP	Température pièce
μL	Microlitre
UV	Ultraviolet
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i>

RÉSUMÉ

Le présent projet consiste en la synthèse de glycopeptidomimétiques cycliques incluant un motif triazole au sein de leur structure. Pour cela, l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique a été synthétisé selon les travaux de Murphy et al.⁴⁷ alors que des peptides propargylés innovateurs ont été préparés par des méthodes de couplage connues. Ces derniers ont été couplés à l'acide glucuronique fonctionnalisé, ce qui a aussi permis la synthèse de nouveaux composés analysés par spectroscopie. Par contre, la cyclisation de ces molécules linéaires par chimie *click* n'a pas été employée, de manière générale, sur d'assez grandes quantités de produits pour permettre ces analyses. La chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse a plutôt été utilisée sur une fraction des petites quantités avec lesquelles les cyclisations ont été tentées. Elle a permis l'analyse des produits obtenus, nombreux lorsque les conditions impliquaient une dilution moindre et favorisaient l'oligomérisation. Des conditions de plus en plus diluées ont donc été utilisées dans certains cas dans le but d'optimiser les chances de cyclisation sous forme monomérique. Tel qu'il est conclu plus loin, les cyclisations par chimie *click* seront effectuées sur des plus grandes quantités dans le but d'étudier les monomères obtenus, ce qui consiste en un objectif futur.

Seul l'acide glucuronique a été utilisé ici, mais plusieurs autres sucres pourront être incorporés à de telles structures maintenant que la méthode est développée. Il en va de même pour les acides aminés : certains seulement ont été employés à ce niveau-ci mais cela n'empêche pas la diversification des structures par la variation des peptides propargylés couplés à l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique ou à d'autres sucres fonctionnalisés.

MOTS-CLÉS : Couplage peptidique, SAA, macrocyclisation, chimie *click*, oligomérisation.

INTRODUCTION

Plusieurs peptides naturels sont connus pour avoir une activité antibiotique ou antimicrobienne. Ils peuvent être isolés de plantes, d'organismes vertébrés ou invertébrés ou des humains. En effet, certains font partie du système immunitaire et sont nécessaires au combat antimicrobien naturel.¹

La négligence ou l'utilisation abusive des antibiotiques au cours des dernières années a mené à un phénomène de multirésistance de la part des bactéries pathogènes. Les antibiotiques n'ont plus les effets escomptés puisque ces dernières se multiplient malgré leur présence. Depuis que ce phénomène de résistance acquise a été constaté, les chercheurs sont confrontés au défi qui consiste en le développement de nouveaux composés biologiquement actifs contre les souches bactériennes.

La synthèse totale de divers produits naturels étant difficilement accessible aux chimistes, la préparation de mimétiques synthétiques s'impose. Cela peut se faire par simplification ou bien par modification chimique de structures connues comme étant actives.¹ Ces analogues peuvent montrer une activité biologique semblable aux produits naturels voire une activité plus forte et donc plus intéressante. De nouveaux antibiotiques peuvent être synthétisés de cette façon. Quelques exemples sont cités dans les chapitres suivants. Parmi ceux-ci se trouvent un dérivé de la San A (Schéma 1.7), un triazole remplaçant un amide au sein d'un tétrapeptide cyclique (Schéma 2.9), un dérivé du dimère Smac (Figure 2.1) et un dérivé de la Gramicidine S (Figure 3.5).

En revanche, dans certaines situations, la prévention peut éviter l'infection et donc l'utilisation d'un antibiotique. Le proverbe populaire «mieux vaut prévenir que guérir» évoque cette possibilité. Ce dernier, appliqué au domaine physiologique, implique le principe

¹ Seward, N., *Beilstein J. Org. Chem.*, **2012**, 8, 1144-1145.

du leurre et suggère que l'action de la bactérie ne sera pas empêchée, mais plutôt déviée de son plan initial. Dans ce cas, certaines structures peuvent être utiles et pourraient permettre des interactions protéines-glycoconjugués modifiées. Ces interactions impliquent initialement la lectine retrouvée en surface de la bactérie et le sucre retrouvé en surface de la cellule cible et permettent l'infection. Dévier ces interactions vers un glycomimétique permettrait d'éviter l'infection.

En effet, des composés glycomimétiques peuvent être synthétisés de façon à imiter les glycoconjugués d'intérêt retrouvés en surface des cellules cibles recherchés par les lectines des bactéries. Ainsi, un comprimé, par exemple, composé de cet imitateur du sucre naturel, peut être ingéré et dévier l'action des bactéries. Le message pathogène atteint le glycomimétique mais n'aboutit pas à la cellule cible, contrairement à lorsqu'il interagit avec le glycoconjugué naturel. Pour que ce procédé permette de bons résultats, le glycomimétique doit permettre de meilleures interactions avec la lectine que ce glycoconjugué naturel relié à la cellule cible. Cette affinité peut être analysée selon les résultats de l'activité biologique des glycomimétiques. Le recoupement de ceux-ci pourra conduire à la modification d'une ou de plusieurs des structure(s) initiale(s) en y intégrant des éléments chimiques de façon contrôlée pour aboutir idéalement à au moins un dérivé fonctionnalisé optimisé possédant une activité inhibitrice satisfaisante pouvant signifier une interaction protéine-glycoconjugué optimisée.

L'objectif du présent projet est de synthétiser des glycoconjugués composées d'un motif triazole et d'au moins un acide aminé. Les molécules formées seront donc plus précisément des glycopeptidomimétiques. Ainsi, les avantages des peptides et des sucres seront joints dans le but de former des composés plus actifs que les équivalents respectifs ne comportant qu'une seule de ces deux fonctions. Aussi, ces composés devront être sous forme cyclique et monomérique. Ils seront étudiés en spectroscopie (RMN une et deux dimensions et IR) et spectrométrie de masse (CL-SM) dans le but de s'assurer de la présence des bonnes conformations et de la pureté des produits. Les tests biologiques font partie d'un objectif futur.

Les structures visées par ce projet sont novatrices. Les avantages reliés aux diverses composantes de ces molécules finales (glycoconjugués, acides aminés, motifs triazoles) et des exemples publiés se rapprochant des molécules désirées sont les thèmes des prochains chapitres. Ils permettent de comprendre l'importance et l'utilité envisagée des composés visés.

CHAPITRE I

CHIMIE DES PEPTIDES

1.1 Les acides aminés^{2,3}

Un concept important pour le présent projet concerne les acides aminés et les composés en découlant, les peptides. Un acide aminé est une molécule composée de deux groupements fonctionnels précis, soient une amine et un acide, de même qu'un hydrogène et une chaîne latérale précise, tous branchés sur le même carbone. Il existe 20 acides aminés présents dans tous les êtres vivants connus à ce jour. D'autres ne sont retrouvés que dans des protéines particulières. La chaîne latérale des 20 acides aminés est constituée majoritairement d'atomes de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote, mais aussi, en minorité, d'atomes de soufre. L'acide aminé le plus simple possède comme chaîne latérale un atome d'hydrogène : il s'agit de la glycine.

La complexité de la chaîne latérale augmente ensuite d'une simple chaîne alkyle (leucine, isoleucine, valine) à une chaîne alkyle substituée (lysine, sérine, thréonine) à un cycle aromatique substitué (tyrosine) ou un hétérocycle (histidine, tryptophane). Chacune de ces chaînes latérales détermine les propriétés physiques et chimiques des acides aminés selon sa composition. Ceux-ci peuvent donc être classés selon ces propriétés : chaîne latérale non polaire et hydrophobe, polaire et hydrophile ou acide et basique (hydrophile). De plus, tous les acides aminés excepté la glycine possèdent un centre stéréogénique sur le carbone central, ce qui peut être déduit de la description ci-dessus. Ces 19 acides aminés naturels sont de configuration L (lévogyres, selon la convention de Fischer) et 18 d'entre eux sont de

² Campbell, N.A., Reece, J.B., *Biologie*, Deuxième édition, Éditions du renouveau pédagogique inc., St-Laurent, 2004, 1490 pages.

³ Voet, D., Voet, J.G., *Biochimie*, Deuxième édition, De Bock Université, Belgique, 2005, 1602 pages.

configuration S (selon le système Cahn-Ingol-Prelog, l'exception étant la L-cystéine, qui est (R)-cystéine). Voici un tableau permettant de visualiser ceci (excepté la stéréochimie). Les symboles des acides aminés y sont indiqués et seront utilisés pour la suite dans le but d'alléger le texte, les figures et les schémas.

Tableau 1.1 Acides aminés naturels (noms, symboles à trois lettres, symboles à une lettre et structures).

Nom, XYZ, X	Structure	Nom, XYZ, X	Structure	Nom, XYZ, X	Structure
Acides aminés non polaires					
Alanine, Ala, A	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{O}^- \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Glycine, Gly, G	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{O}^- \\ \\ \text{H} \end{array}$	Isoleucine, Ile, I	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{O}^- \\ \\ \text{CHCH}_3 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Leucine, Leu, L	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{O}^- \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CHCH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Méthionine, Met, M	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{O}^- \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{S} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Phénylanine, Phe, F	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{O}^- \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$
Proline, Pro, P	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{C}-\text{O}^- \\ \\ \text{H}_2\text{N} \end{array}$	Tryptophane, Trp, W	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{O}^- \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{Indole} \end{array}$	Valine, Val, V	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{O}^- \\ \\ \text{CHCH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Acides aminés polaires non chargés					
Asparagine, Asn, N	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{O}^- \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C=O} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Cystéine, Cys, C	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{O}^- \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{SH} \end{array}$	Glutamine, Gln, Q	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{O}^- \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C=O} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Sérine, Ser, S	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{O}^- \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{OH} \end{array}$	Thréonine, Thr, T	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{O}^- \\ \\ \text{CH}(\text{OH}) \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Tyrosine, Tyr, Y	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{O}^- \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\ \\ \text{OH} \end{array}$

Acides aminés polaires chargés					
Acide aspartique, Asp, D		Acide glutamique, Glu, E		Arginine, Arg, R	
$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{O}^- \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{O}^- \end{array}$		$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{O}^- \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{O}^- \end{array}$		$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{O}^- \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{NH} \\ \\ \text{C}=\text{NH}_2^+ \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	
Histidine, His, H		Lysine, Lys, K			
$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{O}^- \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{+HN} \quad \text{NH} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{NH} \quad \text{HN}^+ \end{array}$		$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{O}^- \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$			

La forme ionisée des acides aminés est montrée dans ce tableau puisqu'au pH physiologique l'acide carboxylique est retrouvé sous sa forme carboxylate alors que l'amine est protonée. Ce caractère amphotère des acides aminés est signe de leur polarité.

L'abondance de chacun des acides aminés dans les protéines varie selon les fonctions de celles-ci. Globalement, les résidus Leu, Ala, Gly, Ser, Val et Glu sont retrouvés le plus fréquemment (chacun représentant plus de 6% en quantité) à l'opposé de His, Met, Cys et Trp qui sont moins présents (moins de 3% chacun).

Les acides aminés servent à la fabrication des protéines mais ne peuvent pas tous être synthétisés par les être vivants. En effet, la moitié seulement des acides aminés peuvent être synthétisés à partir de l'azote organique du régime alimentaire des mammifères (acides aminés non-essentiels) ; l'autre moitié, les acides aminés essentiels, doit se retrouver dans ce régime alimentaire (viandes, œufs, fromages, etc.). Ils constituent donc une des quatre catégories de nutriments essentiels. De plus, ces sources doivent être consommés quotidiennement et de façon à obtenir tous les acides aminés essentiels. Autrement, la synthèse des protéines pourrait être retardée. Il semblerait que les enzymes servant à la fabrication des acides aminés essentiels ont été perdues au fil de l'évolution puisque ceux-ci

sont disponibles dans l'alimentation. Le tableau suivant indique les acides aminés non-essentiels et les essentiels.

Tableau 1.2 Listes des acides aminés non-essentiels et essentiels.

AA non-essentiels	Ala, Asn, Asp, Cys, Glu, Gln, Gly, Pro, Ser, Tyr
AA essentiels	Arg, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Thr, Trp, Val

En plus de leur présence dans les protéines, certains acides aminés et petits peptides sont connus pour avoir un rôle au sein du système nerveux central à titre de neurotransmetteurs. Aussi, ce sont des métabolites énergétiques et des précurseurs des composés azotés importants. En effet, lorsque les acides aminés sont ingérés en plus grandes quantités que celles nécessaires à la fabrication des protéines ou au bon fonctionnement des neurotransmetteurs, ils subissent des transformations telles que la désamination. Ce catabolisme permet au cycle de l'urée de bien fonctionner (utilisation de l'azote en excès) et au glucose d'être synthétisé lors de la gluconéogénèse (utilisation du squelette carboné). Certains acides aminés peuvent aussi être transformés en précurseurs d'acides gras. Bref, ce sont des composés nécessaires au bon fonctionnement du corps humain et animal.

Leur présence peut être mentionnée dans les pesticides⁴ et le cannabis⁵ (qui en contient près des vingt). De plus, les acides aminés peuvent être utiles lorsque vient le temps de détecter certaines tumeurs : des petits peptides peuvent être synthétisés tout en se voyant radiomarqués. Ceci permet leur utilisation en milieu biologique où ils démontrent une affinité importante avec les récepteurs des cellules cancéreuses et permettent d'obtenir des images des tumeurs ou métastases par tomographie par émission mono-photonique (TEMP) par exemple. Les avancées dans ce domaine permettent même l'utilisation de peptides thérapeutiques (au lieu de peptides d'imagerie) dans le but de traiter les patients atteints du cancer.^{6,7}

⁴ Cantrell, C.L., Dayan, F.E., Duke, S.O., *J. Nat. Prod.* **2012**, 75, 1231–1242.

⁵ Turner, C.E., Elsohly, M.A., Boeren, E.G., *J. Nat. Prod.* **1980**, 43, 169-234.

⁶ Zimmerman, R., *La médecine nucléaire : La radioactivité au service du diagnostic et de la thérapie*, EDP sciences, France, **2006**, 178 pages.

⁷ Fani, M., Maecke, H.R., Okarvi, S.M., *Theranostics*, **2012**, 2, 481-501.

1.2 Les peptides

Entre l'amine d'un acide aminé et l'acide d'un autre peut se former une fonction amide. Ceci s'effectue par couplage peptidique : un dipeptide est ainsi obtenu. La liaison peptidique correspondante a été découverte en 1902 indépendamment par Emil Fischer et Franz Hofmeister.³ Si le procédé de couplage est répété plusieurs fois, un petit polymère est observé et il sera nommé tri-, tétra, oligo- ou polypeptide selon le cas, ou bien simplement peptide. Il peut s'agir d'un polymère linéaire permettant divers repliements lors de la formation des protéines.

Les polypeptides peuvent être synthétisés chimiquement. Plusieurs avantages caractérisent cette chimie : les propriétés chimiques et physiques des chaînes de peptides peuvent être contrôlées en variant l'utilisation des acides aminés (selon le groupement R latéral de chacun), des radioactivités peuvent être implantées sur certains résidus spécifiques comme mentionné plus haut et des polypeptides actifs en pharmacologie peuvent être synthétisés (pour la réalisation de nouveaux vaccins synthétiques par exemple). Bien que cette chimie soit devenue classique, un désavantage peut être souligné : chaque étape de couplage peptidique inclut en fait quelques étapes telles que la protection d'un ou des groupements réactifs présents comme les amines terminales, la transformation de l'acide en ester activé dans le but de faciliter le couplage, le couplage lui-même et la déprotection de l'amine pour le couplage suivant. Toutes ces étapes possèdent leurs propres rendements, fréquemment inférieurs à 100%. Cela empêche l'obtention de rendements globaux intéressants lorsque plusieurs couplages de suite sont effectués et consiste en une source d'erreurs considérable. Aussi, des conditions impliquant des bases ou des acides forts ne peuvent être employés puisque les liens amides déjà formés seraient hydrolysés.

Cette chimie est utilisée dans le cadre du présent projet. Avant d'analyser des exemples retrouvés dans la littérature (certains ayant inspiré le projet actuel), voici quelques notions mécanistiques. D'abord, lors de la protection des amines, un chlorure d'acyle peut être employé. Le mécanisme est illustré dans le Schéma 1.1, où il est possible d'observer l'attaque de l'amine A sur le chlorure d'acyle qui se voit perdre son atome de chlore alors que l'amine devient un amide. La structure du chlorure d'acyle est ici généralisée puisque R' peut

représenter plusieurs substituants. Une simple déprotonation de l'amide obtenu permet l'obtention du produit résultant de la protection (**B**).

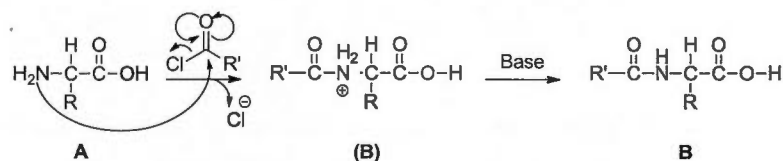


Schéma 1.1 Mécanisme général de protection d'une amine (**A**).

Un groupement protecteur en particulier est souvent utilisé pour protéger les amines lors de couplages peptidiques. Il s'agit du groupe *tert*-butoxycarbonyle (Boc), qui permet la formation d'un carbamate avec l'amine à protéger. Il peut être installé sous sa forme chlorure d'acyle (BocCl) ou sous sa forme anhydride, le dicarbonate de di-*tert*-butyle ou Boc_2O , tel que montré ci-dessous selon le mécanisme déjà mentionné.

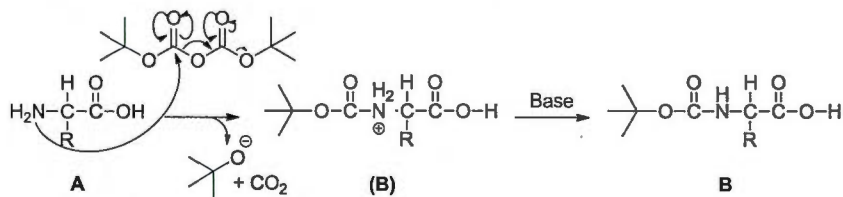


Schéma 1.2 Mécanisme de protection d'une amine (**A**) par Boc_2O .

La déprotection du Boc en conditions acides implique que l'amide **B** soit protonée. Cela permet de détruire le groupement protecteur et du CO_2 et un cation *tert*-butyle sont obtenus en plus de l'amine déprotégée (**A**). L'acide employé peut être l'acide chlorhydrique simplement ou bien l'acide trifluoroacétique (TFA, CF_3COOH). Le Schéma 1.3, illustrant l'utilisation de TFA, montre qu'un sel est obtenu. Le contre-ion de celui-ci diffère selon l'acide de départ. Le groupement R est utilisé dans le seul but de généraliser une protection de l'acide.

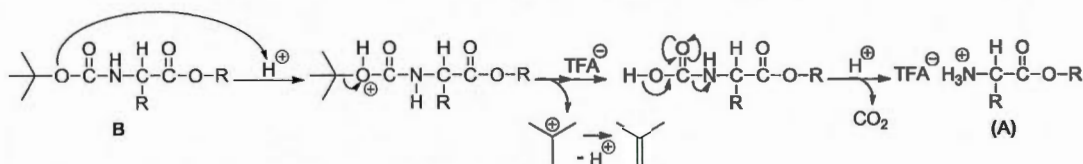


Schéma 1.3 Mécanisme de déprotection d'un Boc-NH-R (**B**) en conditions acides.

Dans le cadre de ce projet, les acides utilisés ne sont pas protégés mais sont plutôt fonctionnalisés par un couplage peptidique. Ce concept important procède par l'activation de cet acide. Le schéma suivant illustre le mécanisme de ceci avec l'agent de couplage CDI. D'autres agents de couplage tels que les carbodiimides DCC ou EDC peuvent aussi être employés. Le mécanisme varie légèrement selon leur structure mais reste essentiellement le même. Une fois l'acide **B** déprotoné par la base, l'anion formé (carboxylate) réagit avec le carbonyle de l'agent de couplage et ceci permet d'expulser le groupement imidazole (dans le cas du CDI). L'ester ainsi formé sur l'acide aminé est plus réactif, assez pour réagir avec l'amine du second acide aminé (**A**), d'où son nom d'ester activé. En effet, le nouveau groupement annexé au carbonyle attire les électrons et rend son carbone très électroattracteur. Une seconde molécule d'imidazole ainsi que du CO_2 se voient formés par la réaction de couplage, de même que le nouveau lien peptidique (voir **C**).

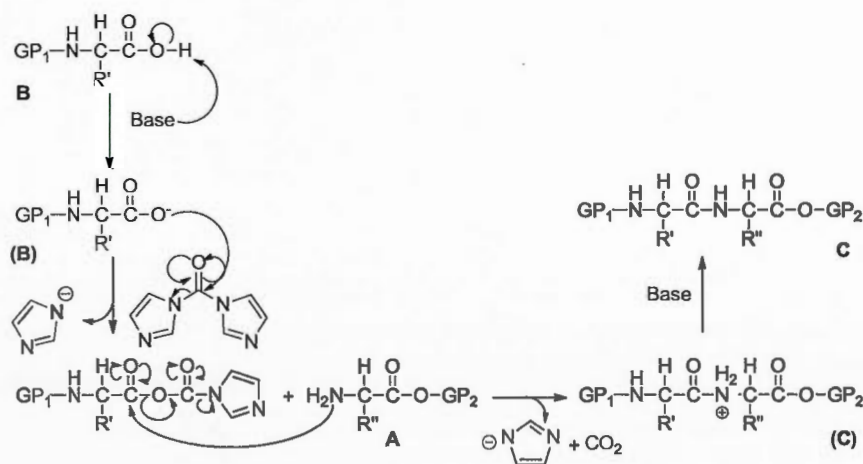


Schéma 1.4 Mécanisme de l'activation d'un acide (**B**) et d'un couplage peptidique.

Le schéma ci-haut illustre un couplage entre deux acides aminés protégés, mais des chaînes peptidiques peuvent aussi être couplées ensemble. Dans ce cas, les groupes protecteurs sont présents en fin de chaînes formées par des suites d'acides aminés et se retrouvent à chaque extrémité du peptide final une fois le couplage effectué. Seuls l'acide et l'amine des AA à coupler doivent être sous formes libres.

1.3 Les peptides cycliques

Les macrocyclisations sont aussi utilisées en chimie des peptides. Les peptides cycliques sont plus stables *in vivo* que les versions linéaires correspondantes : ils sont donc des candidats propices à de meilleurs agents thérapeutiques que ces derniers.^{8,9} L'absence des terminaisons acide et amine leur procure une stabilité face à la protéolyse.¹⁰ Leur complexité et rigidité de même que la possibilité de formation de ponts hydrogènes intramoléculaires pourraient être ce qui explique leur présence dans plusieurs composés naturels biologiquement actifs¹¹ dont quelques-uns sont présentés ici.

La cyclisation de longs oligopeptides (par exemple octapeptide) est plus aisée que celle de plus petits oligopeptides (par exemple térapeptide). Les contraintes stériques peuvent être plus facilement contournées ou contrôlées lorsque la chaîne peptidique est plus longue : la contorsion du peptide linéaire est plus facile et permet plus facilement les interactions entre les extrémités complémentaires de ce même peptide par rapport aux interactions entre celles de deux peptides linéaires différents. Pour un petit peptide, les contraintes stériques sont importantes et peuvent empêcher le repliement donc les interactions entre ses deux fonctions terminales. Des conditions diluées peuvent de plus être nécessaires pour permettre l'accomplissement de l'intracyclisation par rapport à l'intercyclisation (dimérisation ou oligomérisation). Aussi, des acides aminés tels que la glycine et la proline permettant une

⁸ Lambert, J.N., Mitchell, J.P., Roberts, K.D., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2001**, 471–484.

⁹ Overhand, M. et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, 13, 331-334.

¹⁰ Katritzky, A.R. et al., *Beilstein, J. Org. Chem.*, **2012**, 8, 1146-1160.

¹¹ Tripathi, R.P. et al., *Org. Lett.*, **2012**, 14, 4306-4309.

malléabilité plus aisée peuvent être employés. En plus de ces contraintes stériques, la conformation préférentiellement *trans* des acides aminés fait en sorte que les extrémités des peptides linéaires sont souvent à l'opposé.¹² Ceci rend la lactamisation encore plus difficile.

Un exemple intéressant permettant de visualiser l'effet de la présence d'un de ces deux AA est celui présenté par Rothe et al.¹³ en 1965 : la cyclisation d'une tri-L-proline (**1**) avec un rendement de 88% et aucun produit secondaire. L'arrangement spatial de ce tripeptide linéaire est en fait arqué : la rotation de quelques liaisons mène à des liens amides *cis* au lieu de *trans* (tel que c'est le cas habituellement) et permet de comprendre pourquoi l'intracyclisation est si aisée. Le résultat est illustré au Schéma 1.5 : les groupements amine et acide terminaux sont rapprochés dans l'espace. La cyclisation sous forme monomérique est donc d'une telle rapidité que la dimérisation serait évitée. Les deux conformations, **1 cis** et **1 trans**, sont illustrées sur le schéma suivant, de même que le produit cyclique (**2**).

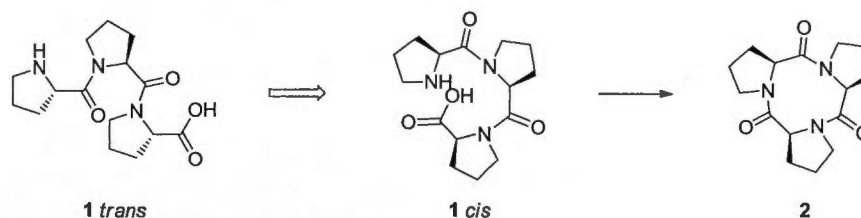


Schéma 1.5 Cyclisation d'une tri-L-Proline **1 cis** vs *trans*.

Mutter et al. ont aussi travaillé à la cyclisation d'un oligopeptide composé de seulement trois AA (**3**).¹⁴ Aucune trace d'oligomérisation n'a été observée même à concentrations plutôt élevée de 0.1M.⁸ De plus, la cyclisation a été immédiate. Le Schéma 1.6 permet d'en identifier la raison.

¹² Van Maarseveen, J.H. et al., *Eur. J. Org. Chem.*, **2008**, 2592-2600.

¹³ Rothe, M., Steffen, K.D., Rothe, I., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1965**, 4, 356.

¹⁴ Rückle, T., de Lavallaz, P., Keller, M., Dumy, P., Mutter, M., *Tetrahedron*, **1999**, 55, 11281-11288.

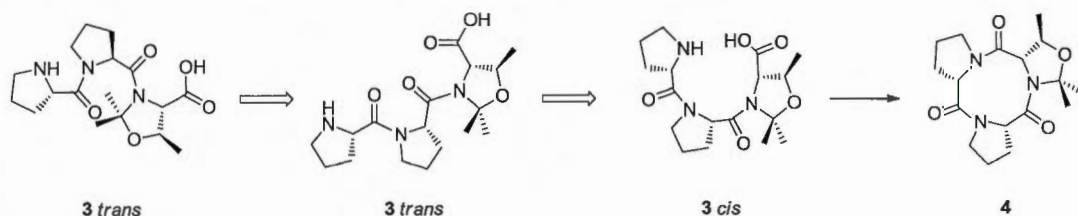


Schéma 1.6 Cyclisation d'un tripeptide **3** *cis* vs *trans*.

L'arrangement *trans* de l'oligopeptide linéaire oblige les substituants à se rapprocher, ce qui se traduit par de l'encombrement stérique considérable. La molécule préférera la conformation **3** *cis*. La présence de deux prolines et d'un AA dérivé de la proline explique encore ici pourquoi la cyclisation monomérique est aisée (et favorisée par rapport à la dimérisation) : aucun encombrement stérique n'est présent et l'amine et l'acide libres et terminaux sont rapprochés (**3** *cis*).

Bref, la présence de la proline ou d'un autre acide aminé semblable oblige un repliement, soit un arrangement particulier au niveau conformationnel qui avantage la cyclisation en provoquant un effet Thorpe-Ingold.¹⁵ Parfois, la présence d'une seule proline permet à la chaîne peptidique d'être repliée sur elle-même et favorise ainsi la cyclisation monomérique. Ce fait est exploité dans le cadre du présent projet.

Le groupe de Seebach a étudié l'effet biologique de l'utilisation d'un oligopeptide cyclique composé uniquement d'acides β -aminés par rapport à l'analogue composé d'acides α -aminés. Ainsi, le repliement de la chaîne pour la cyclisation peut être plus aisé et la dégradation de cette version bêta est empêchée (stabilité vis-à-vis des enzymes de dégradation des α -peptides) tout en ayant un caractère peptidomimétique. Ils ont décidé de synthétiser un β -térapeptide cyclique mimant le Sandostatin (**5**), un médicament utilisé entre autres contre le cancer de l'intestin.¹⁶ L'activité de ce dernier vient d'une partie de son cycle où se situent quatre acides α -aminés (selon les résultats d'études des relations structure-

¹⁵ Jung, M.E., Piizzi, G., *Chem. Rev.*, **2005**, 105, 1735-1766.

¹⁶ Gademann, K., Ernst, M., Hoyer, D., Seebach, D., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1999**, 38, 1223-1226.

activité). Le temps de demi-vie du médicament est court, ce qui amène à vouloir en synthétiser une version de plus grande stabilité. Ce dérivé synthétisé contient donc ces quatre AA, mais sous la forme β (**6**). Le cycle du Sandostatin (**5**) est composé de 20 atomes dont un pont disulfure venant de deux cystéines, alors que le cycle du dérivé β -tétrapeptidique **6** contient les 16 atomes des quatre acides β -aminés. Malgré ces différences, les groupements actifs des deux composés se superposent de façon satisfaisante, ce qui permet de prévoir une activité biologique semblable.

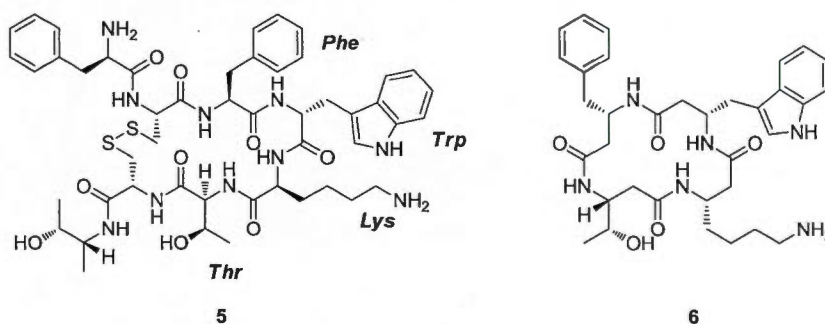


Figure 1.1 Structures du Sandostatin (**5**) et de l'analogue β -aminé (**6**).

Lors des tests biologiques, il a été observé que l'activité du dérivé **6** est présente mais moindre que celle du Sandostatin (**5**). Selon les auteurs, malgré cette plus faible activité, la stabilité des β -peptides envers les métabolismes connus pourrait permettre de compenser la faible imitation de l'activité biologique du dérivé par rapport au médicament naturel actif.

L'hexadepsipeptide cyclique LI-F04a (**7**) a des propriétés antibiotiques contre plusieurs souches bactériennes.¹⁷ Il possède une liaison ester à la place d'une liaison amide dans sa structure, d'où l'appellation «depsipeptide». Les acides aminés le constituant sont la L-thréonine, la D-allo-thréonine, la D-alanine, la D-asparagine, la L-valine et la D-valine.

¹⁷ Cochrane, J.R., Hee Yoon, D., McErlean, C.S.P., Jolliffe, K.A., *Beilstein J. Org. Chem.*, **2012**, *8*, 1344-1351.

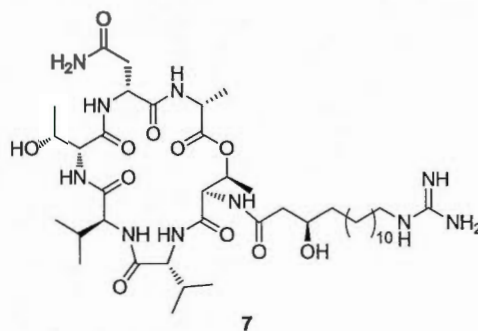


Figure 1.2 Structure de l'hexadepsipeptide cyclique LI-F04a (7).

Quelques variations dans la structure du composé 7 ont été effectuées par le groupe de Jolliffe.¹⁷ Les analogues obtenus ont été testés biologiquement, mais chaque résultat a mené à la même conclusion : la stéréochimie de chaque acide aminé et des substituants des chaînes latérales est importante pour la conservation de l'activité inhibitrice. Cet exemple illustre donc un échec quant à l'amélioration des propriétés biologiques ou, plus positivement, une confirmation de la présence essentielle des composants de la molécule pour la conservation de l'activité biologique. Tous les tests n'ont pas mené à ce genre de conclusion. L'exemple suivant permet de conclure en une meilleure activité pour l'analogue du composé étudié.

La San A (8) est un depsipeptide qui provient de champignons marins et possède une activité antitumorale.¹⁸ Ses divers dérivés peptidiques sont reconnus pour leurs propriétés thérapeutiques envers les cancers du sein et de la prostate par exemple. S.R. McAlpine et al.¹⁸ ont travaillé à la découverte de beaucoup de ces dérivés, ainsi qu'à l'évaluation de leurs potentiels chimiothérapeutiques. Les discussions de l'article en concernent plus de trente, mais seules les structures de la San A (8), du peptide San A (9) et d'un de ses dérivés (17) ainsi que la synthèse de celui-ci seront mentionnés ici. La Figure 1.3 illustre les deux premières structures.

¹⁸ McAlpine, S.R. et al., *J. Org. Chem.*, **2007**, 72, 1980-2002.

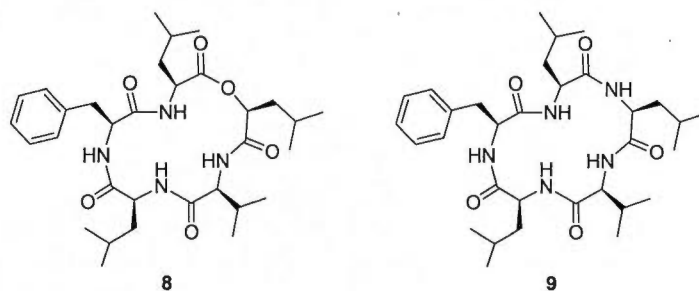


Figure 1.3 Structure du depsipeptide de la San A (**8**) et de la version peptide de la San A (**9**).

Le Schéma 1.7 illustre pour sa part la synthèse du dérivé **17** du peptide San A.¹⁸ Une macrocyclisation peut être observée.

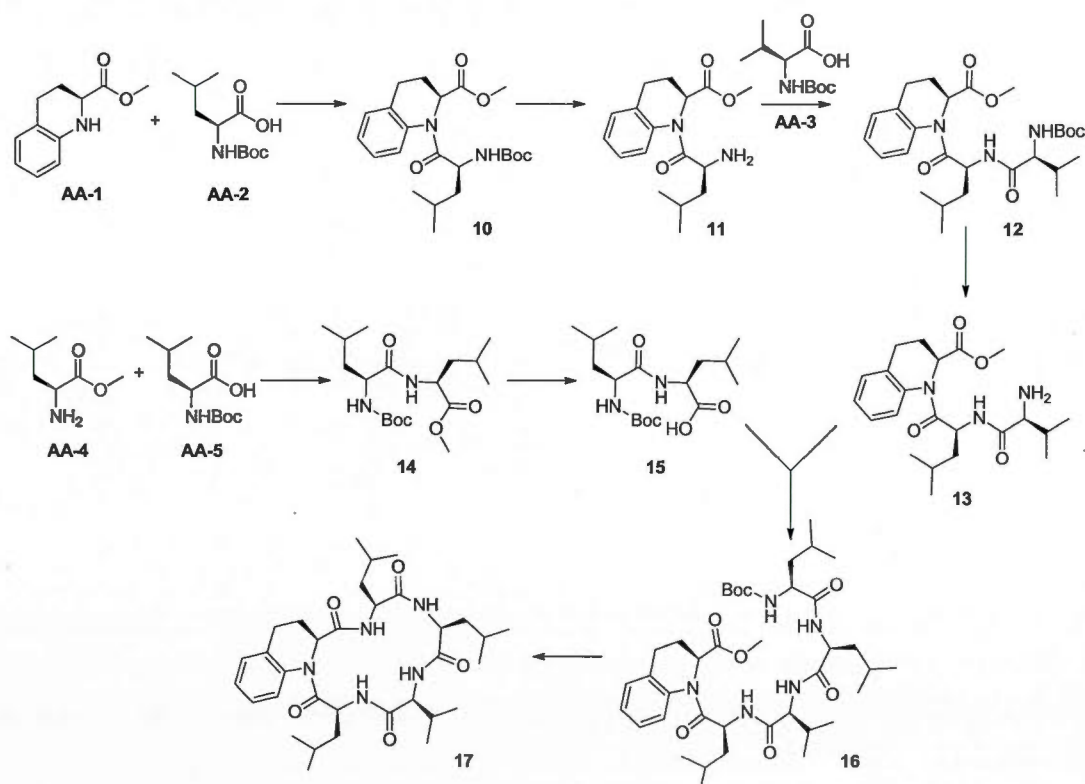


Schéma 1.7 Synthèse du dérivé **17** de la San A (**8**).

Le dérivé **17** illustré ci-dessus est obtenu suite à plusieurs couplages peptidiques et déprotections. D'abord, le dipeptide **10** est formé par couplage entre l'acide aminé **AA-1** dérivé de la tétrahydroisoquinoline protégé au niveau de l'acide et l'acide aminé **AA-2**, une L-leucine protégée au niveau de l'amine (TBTU et HATU, DIPEA, DCM, 92%). La déprotection de l'amine retrouvée sur ce dipeptide **10** est effectuée (TFA, anisole, DCM) puis un nouveau couplage est enclenché avec l'acide aminé **AA-3**, une L-valine protégée au niveau de l'amine (TBTU, DIPEA, DCM, 71%). Ce premier fragment (**12**) est prêt au couplage avec le fragment suivant, préparé par couplage entre l'acide aminé **AA-4**, une L-leucine protégée au niveau de l'acide et l'acide aminé **AA-5**, une deuxième L-leucine protégée au niveau de l'amine (TBTU, DIPEA, DCM, 95%). L'amine du premier fragment (**12**) et l'acide du second (**14**) sont déprotégés (TFA, anisole, DCM/LiOH et MeOH) puis couplés ensemble (TBTU et HATU, DIPEA, DCM, 37%). Le pentapeptide linéaire **16** protégé aux deux extrémités est ainsi obtenu. Une double déprotection est effectuée (HCl, anisole, THF, 4 jours) puis la cyclisation est enclenchée dans des conditions utilisant trois agents de couplage (HATU, DEPBT et TBTU, DIPEA, THF/ACN/DCM, 42%).

Le changement structural observé entre le peptide San A (**9**) et le dérivé **17** synthétisé ci-dessus est en fait un changement au niveau d'un seul des cinq AA (un dérivé de la tétrahydroisoquinoline sous forme d'acide aminé L au lieu de la L-phénylalanine). Il implique une rigidité dans le dérivé qui n'était pas observée au niveau du peptide San A (**9**). Les auteurs voulaient étudier les conséquences d'une conformation restreinte au niveau thérapeutique. Des tests ont donc été effectués sur des cellules du cancer du côlon : le dérivé **17** permettait un taux d'inhibition plus important que le peptide San A (**9**). La synthèse chimique de composés dérivés d'agents thérapeutiques naturels connus permet donc une certaine évolution en ce qui a trait à la compréhension des diverses relations structure chimique-activité thérapeutique.

Des AA non-communs et des depsipeptides cycliques sont souvent retrouvés dans les composés d'origine marine. Les exemples précédent (San A, **9**) et suivant (cyclothéonamide B, **19**) le montrent, de même que la synthèse du composé naturel (-)-tamandarin A (**18**).

Celle-ci a été effectuée en solution et utilise HATU comme agent de couplage lors de la macrolactamisation.⁸ La structure de la (-)-tamandarin A (**18**), isolée des ascidies brésiliennes et possédant des propriétés thérapeutiques contre le cancer du pancréas tel que démontré lors de tests clonogéniques^{19,20}, est illustrée sur la Figure 1.4.

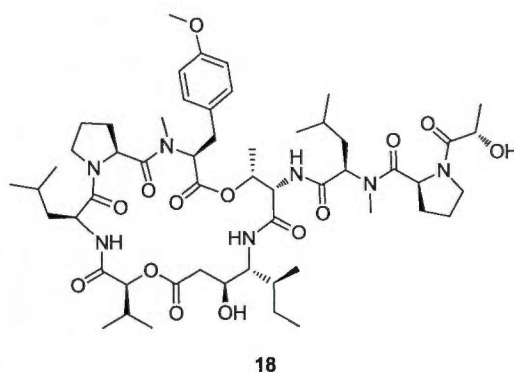


Figure 1.4 Structure de la (-)-tamandarin A (**18**).

La faible abondance de ce composé dans sa source naturelle a mené à des réflexions concernant sa synthèse chimique. L'équipe de Joullié et al.¹⁹ a travaillé sur ce projet et présenté une séquence synthétique de 15 étapes (12.8% de rendement global) à partir de la D-alloisoleucine, un diastéréoisomère de la D-isoleucine. Le Schéma 1.8 indique quelques étapes de cette séquence.

¹⁹ Joullié, M.M. et al., *Org. Lett.*, **1999**, 1, 1319-1322.

²⁰ Li, W.R., Ewing, W.R., Harris, B.D., Joullié, M.M., *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 7659-7672.

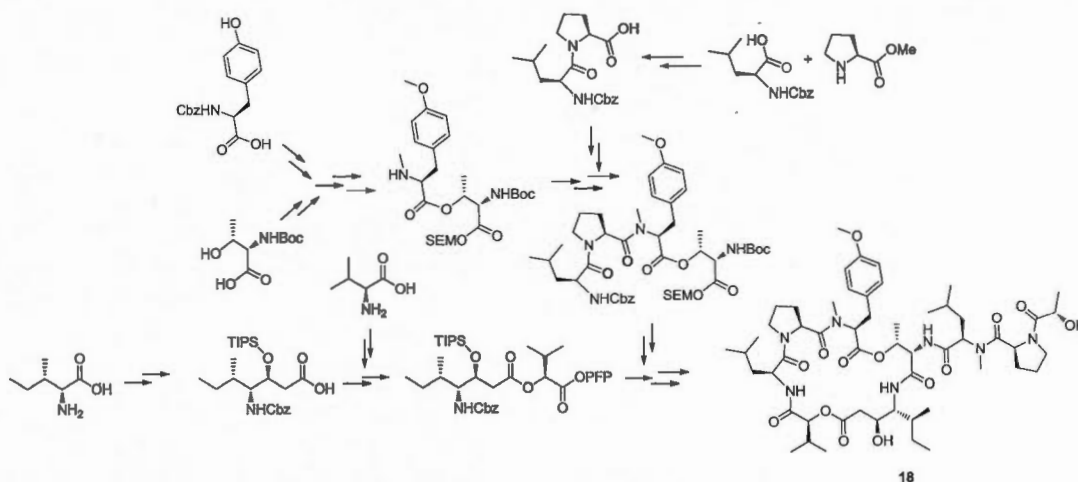


Schéma 1.8 Synthèse de la (-)-tamandarin A (18).

Il est possible de remarquer que la formation des esters est effectuée tôt dans les voies synthétiques. La méthode de cyclisation choisie est la macrolactamisation et non pas la macrolactonisation : le couplage final est peptidique. Tel qu'il est possible d'en avoir un aperçu sur le schéma, les protections employées sont de types carbamates (Cbz- et Boc-) pour les amines ou méthyliques (Me-), allyliques ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-$) et de types éther silylé (SEM, $(\text{CH}_3)_3\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2-$) pour les acides. La protection employée pour l'alcool secondaire est un groupement TIPS, un autre éther silylé. L'activation d'esters est effectuée deux fois avec le groupement PFP, mais d'autres agents de couplage ont été employés : DCC, BOP-Cl, l'isopropénylchloroformate et EDC. Les bases *N*-méthylmorpholine, triéthylamine, diméthylaminopyridine et diisopropyléthylamine ont été utilisées pour ces couplages. Finalement, les conditions de cyclisation ont été celles-ci : HATU, DIPEA et DMF avec une concentration de 0,01M. Les déprotections de l'acide et de l'amine à coupler ainsi que cette cyclisation ont permis un rendement de 63% sur trois étapes. La concentration ainsi que le rendement obtenu indiquent qu'une dilution importante n'était pas nécessaire. La proline pourrait être ce qui a permis ce genre de résultat : l'effet Thorpe-Ingold a pu provoquer un repliement favorable à la cyclisation intramoléculaire.

L'exemple de la San A (9) version peptidique impliquait la macrocyclisation de cinq AA naturels *alpha* dont quatre connus pour leur présence dans les organismes vivants. La macrocyclisation suivante implique un mélange de divers AA ; la L-proline aussi connue pour sa présence dans les organismes vivants ainsi que la D-phénylalanine, l'acide L-2,3-diaminopropanoïque *N*-acétylé, le α -oxo-L- β -homoarginine et un dérivé insaturé de la γ -L-tyrosine, des acides aminés «exotiques». Un arrangement spécifique de ces cinq AA constitue le cyclothéonamide B (19), un pentapeptide cyclique isolé de l'éponge marine *Theonella Swinhoei*.²¹ Il a une activité inhibitrice envers la thrombine, une enzyme de coagulation sanguine. La synthèse totale ne sera pas décrite en entier ici, mais quelques étapes globales seront discutées. Le schéma suivant illustre la séquence globale.

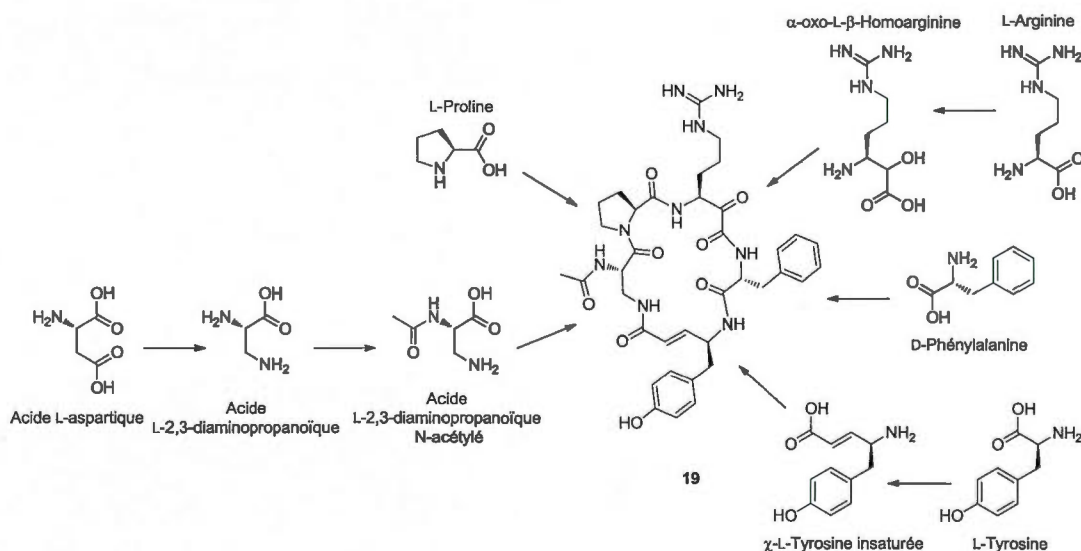


Schéma 1.9 Schématisation de la synthèse du cyclothéonamide B (19).

La L-proline, le dérivé de la L-arginine et la D-phénylalanine ont été couplés ensemble méthodiquement pour former un premier segment à l'aide de diverses réactions telles des protections et déprotections, une réduction et des couplages peptidiques à l'aide de DCC ou TBTU (avec ou sans HOBt). Les mêmes réactions ont été employées pour la synthèse du deuxième segment, composé du dérivé de l'acide L-aspartique et de celui de la L-tyrosine. Une déprotection sélective a été faite sur chacun des segments dans le but de coupler les deux

²¹ Bastiaans, H.M.M., Van der Baan, J.L., Ottenheljm, H.C.J., *J. Org. Chem.*, 1997, 62, 3880-3889.

segments ensemble par la suite. Ceci a été répété pour la cyclisation (TBTU, HOBt) et finalement une oxydation de l'alcool du dérivé de la L-arginine et les déprotections finales ont permis l'obtention de la cyclothéonamide B (**19**) avec un rendement de 1.8% sur 17 étapes. Les analyses spectroscopiques ont confirmé la présence du composé propre par comparaison des résultats avec les analyses du produit naturel.

En plus de la macrocyclisation par la formation d'un lien peptidique²² ou la macrolactamisation, il existe d'autres méthodes qui permettent de former une liaison entre deux extrémités d'une molécule linéaire. Le couplage-croisé de Stille ou de Suzuki (ou la version Suzuki-Miyaura), celui de Ullmann ou la métathèse par fermeture de cycle (*Ring-Closing Metathesis*) en sont des exemples. Une seule méthode sera abordée ici, soit la formation d'un triazole par la *click chemistry*, mais les autres peuvent être retrouvées dans le *Review* de X. Yu et D. Sun.²³

²² White, C.J., Yudin, A.K., *Nature Chemistry*, **2011**, 3, 509-524.

²³ Yu, X., Sun, D., *Molecules*, **2013**, 18, 6230-6268.

CHAPITRE II

Chimie *click*

2.1 Généralités et mécanisme^{24,25}

Tel que mentionné au premier chapitre, le motif triazole sera présent dans chacune des structures finales. Le chapitre présent est consacré à la synthèse de ce motif ainsi qu'à quelques faits et exemples intéressants retrouvés dans la littérature.

La cycloaddition 1,3-dipolaire entre un alcyne (terminal ou non) et un azoture, selon les conditions initiales de Huisgen, permet la formation de deux régioisomères, soient deux triazoles différents. En effet, la température élevée nécessaire à la formation du cycle à cinq atomes impose ici une thermodynamique empêchant le contrôle de la stéréochimie. De plus, les rendements ne sont pas élevés, ce qui diminue l'intérêt relié à la méthode. Depuis la découverte de cette réaction, des conditions plus douces ont été prouvées efficaces pour un contrôle de la régiochimie; le régioisomère disubstitué en 1,4 peut être favorisé par rapport au 1,5-disubstitué. En effet, lorsqu'un catalyseur de cuivre est utilisé (CuAAC pour *Copper-Catalysed Azide-Alkyne Cycloaddition*), le mélange est évité. Le premier isomère peut être obtenu à la température ambiante et dans un solvant aqueux. Une méthode de couplage simple, à grande étendue, régiospécifique, à hauts rendements, aux conditions variables et permettant un minimum de produits secondaires ou même aucun est ainsi mise en place. Celle-ci est devenue le premier exemple de la « *click chemistry* », un concept de réactions respectant ces conditions proposé par Sharpless au début des années 2000.

²⁴ Hein, J.E., Fokin, V.V., *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, 39, 1302-1315.

²⁵ Worrell, B.T., Malik, J.A., Fokin, V.V., *Science*, **2013**, 340, 457-460.

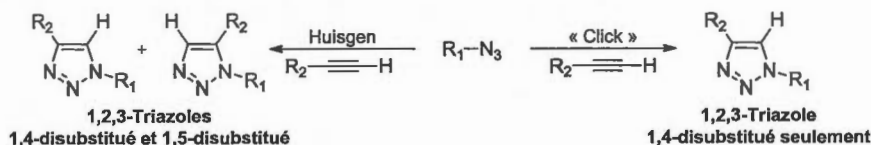


Schéma 2.1 Formation d'un triazole sans catalyseur (Huisgen) et avec catalyseur (click).

Huisgen et ses collègues avaient eux-mêmes fait des analyses réactionnelles reliées à cette cycloaddition, soit avant une quelconque possibilité de catalyse. Ils avaient conclu que la faible vitesse de réaction est due à une haute barrière d'énergie, soit une énergie d'activation élevée, observée même lorsque la réaction est chauffée. De plus, le manque de régiosélectivité peut être expliqué par les énergies similaires des orbitales moléculaires de l'azoture et de l'alcyne terminal; celles-ci ne permettant pas de différencier l'orbitale de plus haute énergie (HOMO) ou celle de plus basse énergie (LUMO) entre les deux molécules. Lorsque le cuivre est utilisé, la vitesse de la réaction est augmentée d'un facteur d'environ 10^7 . La séquence d'étapes mécanistiques menant au triazole est modifiée et passe par la formation d'un intermédiaire régiospécifique nommé 5-triazolyl de cuivre (ce qui est illustré sur le Schéma 2.5).

L'étendue de la méthode est prouvée par la diversité possible des composés utilisés. En effet, la nature de l'azoture peut être diverse (primaire vs tertiaire, riche ou pauvre en électrons, aliphatique vs aromatique, etc.) et l'alcyne terminal peut être substitué de plusieurs façons. De façon générale, le cuivre est le seul métal permettant fiabilité, simplicité et régiospécificité en 1,4, mais plusieurs composés de cuivre peuvent être employés. Selon cette source de cuivre utilisée, le solvant peut être protique ou aprotique. Les catalyseurs de cuivre se divisent en deux catégories, soient des sels de cuivre ou des complexes métalliques du cuivre. Ces derniers permettent par exemple l'emploi de solvants organiques, qui ne peuvent être utilisés aussi facilement avec les sels, qui nécessitent des solvants protiques. Lorsqu'un tel solvant peut être employé, un sel de cuivre est un catalyseur intéressant. CuI , $CuBr$, $CuCl$, $CuOAc$ et $CuSO_4$ sont des exemples. Des précautions doivent être prises avec CuI , de même qu'avec $CuCl$ (quoique l'effet soit moins important), puisque le lien cuivre-iodoalcyne est plus fort que le lien cuivre-alcyne. La présence de l'ion iodure (ou chlorure) provoque donc

un effet inhibiteur par l'obtention d'une espèce alcyne composée d'un iode, 1-iodoalcyne (**E**), donc d'un triazole substitué de cet iode, un 5-iodotriazole (**F**).

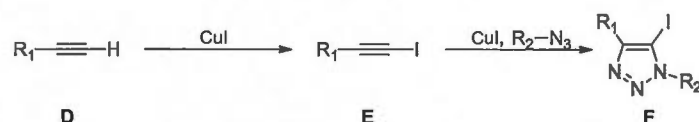


Schéma 2.2 Chimie *click* en présence d'iode.

Autrement, le bromure de cuivre, l'acétate de cuivre et le sulfate de cuivre sont favorisés lorsqu'un solvant aqueux est utilisé. L'acétate de cuivre est aussi pratique en milieu organique. L'important ici est le degré d'oxydation du cuivre. Cu(I) est l'espèce active dans de telles réactions. Il peut être utilisé seul ou en présence d'un ligand, selon le cas. L'oxygène doit être absent du milieu réactionnel. Pour cette raison, un catalyseur intéressant est le CuSO₄ accompagné de l'ascorbate de sodium, un sel de la vitamine C. Il s'agit d'un réducteur doux qui permet la réduction de l'oxygène de même que du Cu(II) en Cu(0) (qui génèrent 2 entités Cu(I) par comproportionation) : les conditions délicates nécessaires à l'élimination de l'oxygène sont ainsi évitées et le catalyseur est régénéré au fur et à mesure.

Si le régioisomère 1,5-disubstitué veut être sélectivement obtenu, certains organométalliques de ruthénium peuvent être employés (RuAAC pour *Ruthenium-Catalysed Azide-Alkyne Cycloaddition*).²⁶ Les auteurs ayant mis à jour cette possibilité complémentaire ont aussi démontré qu'un alcyne disubstitué peut être utilisé avec ces complexes métalliques de ruthénium, au contraire des réactions catalysées au cuivre. En effet, les intermédiaires réactionnels sont différents. Ce détail ne sera pas discuté plus amplement ici.

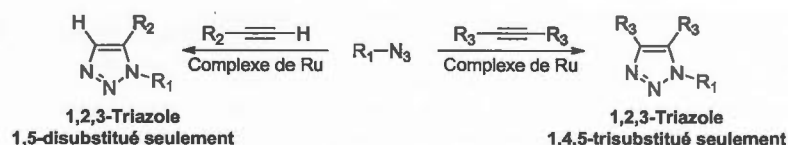


Schéma 2.3 Chimie *click* version ruthénium (RuAAC).

²⁶ Jia, G., Fokin, V.V. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 15998-15999.

Les réactions de bioconjugaison nécessitent un catalyseur chimiosélectif, biocompatible et à vitesse de réaction élevée. Un ligand peut être nécessaire lorsque le catalyseur ne respecte pas ces conditions ou lorsque l'état d'oxydation du Cu(I) doit être stabilisé. Il agit à titre de donneur de densité électronique vers le métal sans influencer son état d'oxydation.²⁷

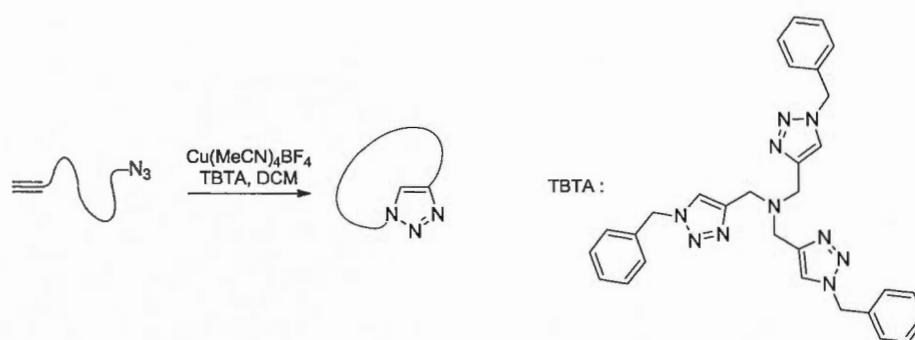


Schéma 2.4 Chimie *click* catalysée avec $\text{Cu}(\text{MeCN})_4\text{BF}_4$ assistée par TBTA.

La «*click*» a vu son étendue s'agrandir au fil des ans : son utilité s'est développée et diversifiée. Ceci a permis à plusieurs chimistes de considérer cette nouvelle méthode de couplage comme un nouveau moyen de jumeler 2 composés (chacun possédant une des deux fonctions complémentaires nécessaires) ou même de cycliser une même molécule sur laquelle se retrouvent un azoture et un alcyne terminal. De plus, le triazole obtenu par formation de liaisons covalentes est stable, possède un moment dipolaire et un caractère aromatique et est un accepteur de ponts hydrogènes. Ceci peut être avantageux en milieu biologique, tel qu'il sera discuté plus loin.

Le mécanisme de la réaction «*click*» est défini par la réactivité des composés impliqués. L'azote terminal de l'azoture est de tendance électrophile alors que l'azote opposé, de même que la triple liaison, démontrent une tendance nucléophile. Les alcynes de cuivre sont facilement formés mais ont tendance à se polymériser. Pour éviter ceci, l'azoture organique doit être présent durant l'activation de la triple liaison, ce qui permet au cycle de rester productif sans en ralentir la vitesse.

²⁷ Chouhan, G., James, K., *Org. Lett.*, **2011**, 13, 2754-2757.

Ce mécanisme, représenté au Schéma 2.5, consiste en une coordination π d'un atome de cuivre sur l'alcyne (**a**), permettant la baisse du pKa (acidification) et la déprotonation de l'hydrogène terminal de la triple liaison, le tout suivi d'une coordination σ (**b**). La triple liaison agit ensuite à titre de nucléophile et se lie à l'azote terminal de l'azoture, dont l'azote opposé se coordonne ensuite au premier cuivre (en π). Le complexe **d** est ainsi formé par le mécanisme illustré. La formation du triazole est ensuite énergiquement favorisée par un échange de ligand et un tel cycle substitué du cuivre est obtenu (**e**). Le triazole **f** est obtenu suite à une régénération du catalyseur et un nouveau cycle catalytique est entamé. Certaines réactions extérieures au cycle productif du schéma récapitulatif suivant sont possibles et peuvent diminuer l'efficacité de ce dernier.

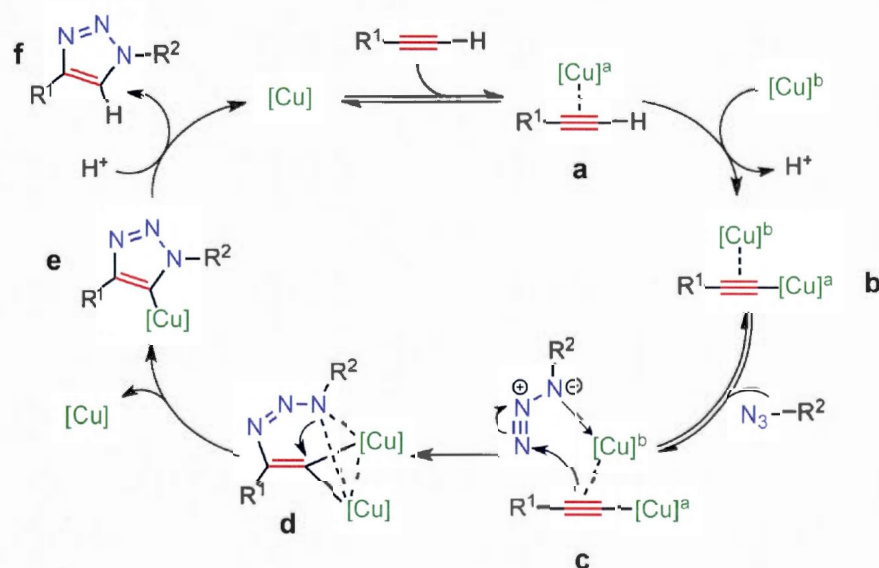


Schéma 2.5 Mécanisme de la *click*²⁵.

2.2 Quelques antécédents illustrant l'étendue de la chimie *click*

Un exemple de chimie «*click*» relié aux oligosaccharides et démontrant bien les différences de solvants utilisés est démontré ci-dessous.²⁸ Il implique d'abord l'azoture anomérique **20** obtenu en quelques étapes à partir du glucose et un dérivé alcyne **21** de l'acide glucuronique. Ces deux composés sont plus ou moins solubles dans le mélange d'alcool *tert*-butylique et eau testé pour la réaction, mais ils le sont suffisamment pour lui permettre de se produire avec un rendement de 91% lorsqu'accompagnés de l'ascorbate de sodium et du sulfate de cuivre. La séquence réactionnelle proposée par les auteurs implique ensuite la modification de la position anomérique du dimère **22** obtenu vers l'installation d'un nouveau groupement -N₃ auquel est «*clické*» le même dérivé alcyne **21**. Dû à un problème de solubilité de ce nouvel azoture organique **23** dans le solvant aqueux, un rendement faible était obtenu si les mêmes conditions étaient testées. Pour cette raison, le milieu réactionnel ainsi que les catalyseurs ont été modifiés vers des conditions organiques : le 1,2-dichloroéthane a été utilisé à titre de solvant, le Cu(PPh₃)₃Br à titre de catalyseur et finalement DIPEA à titre de base. Le composé **24** a été obtenu avec un rendement de 54%. Ceci représente le sujet du choix de solvants discuté plus haut et est illustré sur le Schéma 2.6.

²⁸ Temelkoff, D., Zeller, M., Norris, P., *Carbohydrate Research*, **2006**, 341, 1081–1090.

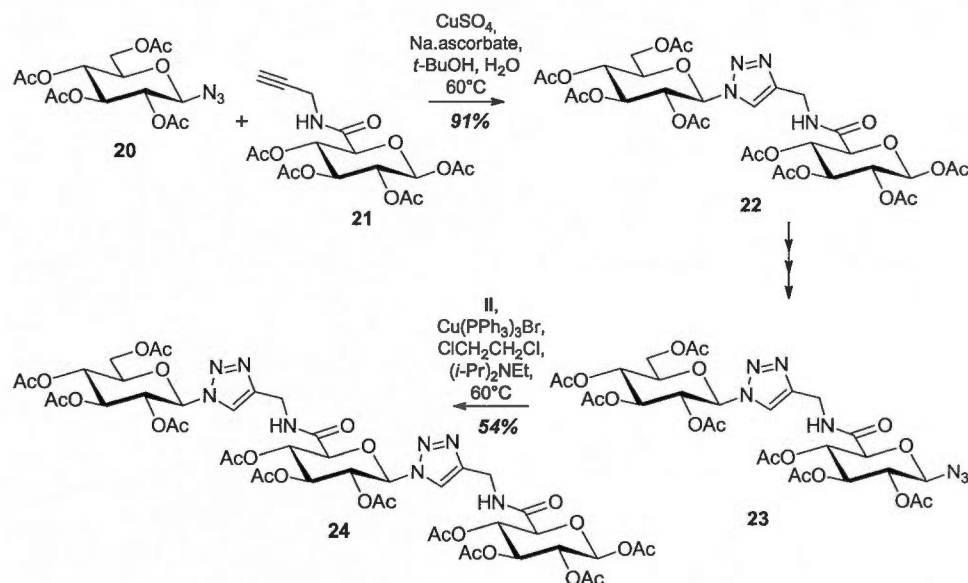


Schéma 2.6 Séquence synthétique illustrant l'étendue de la chimie *click* et une variation de solvant selon la solubilité.

La chimie «*click*» peut aussi être employée dans le domaine des dendrimères. Elle peut être utilisée dans le but d'installer de nouvelles fonctionnalités sur les branches du noyau déjà modifié et construit pour grossir uniformément le dendrimère ou bien sur les branches des sous-unités dendritiques qui sont par la suite reliées entre elles dans le but de former le dendrimère. Cette deuxième procédure peut être illustrée par l'exemple ci-dessous (Schéma 2.7) où la chimie «*click*» est utilisée pour greffer la sous-unité 25 au cœur dendritique 24²⁹. Ces azotures peuvent ensuite être couplés à des dérivés galactosides 28. Les étapes suivantes mènent au couplage entre cette moitié dendritique et une autre presque identique : suite à une déprotection de l'amine 29, celle-ci est couplée avec le composé 26 obtenu suite à l'étape initiale, soit la sous-unité dendritique, dont l'ester est préalablement déprotégé (30). Ensuite vient une nouvelle «*click*» avec le dérivé fucoside 31. La méthode permet ainsi de procéder à deux *click* successives et différentes et de former deux faces distinctes sur le dendrimère 32

²⁹ Deguise, I., Lagnoux, D., Roy, R., *New J. Chem.*, 2007, 31, 1321–1331.

(formation d'un dendrimère de type Janus). Le composé final obtenu a fait l'objet de la publication du laboratoire Roy.

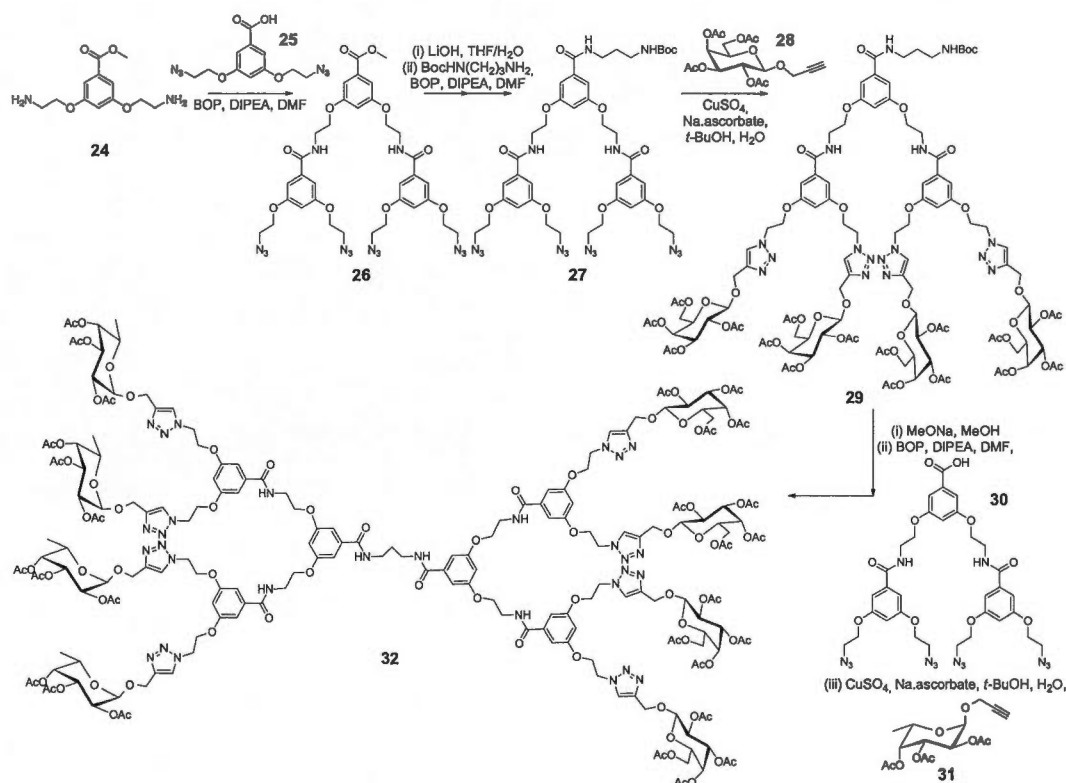


Schéma 2.7 Séquence synthétique illustrant l'étendue de la chimie *click* dans le domaine des dendrimères.

Les quelques exemples figurés ici n'indiquent pas l'ampleur et l'importance de la «*click chemistry*» : ce ne sont que quelques cas parmi beaucoup d'autres. Le numéro 4 du journal *Chemical Society Reviews* de 2010, par exemple, peut être consulté pour une revue de ces possibilités.³⁰ Pour conclure cette section spécifique à la chimie «*click*» en général, voici une variété de la CuACC ; la NOAC (*nitrile oxide-alkyne cycloaddition*, Schéma 2.8).³¹ Cette chimie implique une cycloaddition très semblable à celle mentionnée jusqu'ici, à la différence près du réactif azoture qui est remplacé par un oxyde de nitrile (formé *in situ*). Il

³⁰ Finn, M.G., Fokin, V.V., *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, 39, 1231-1232 et les articles thématiques de l'édition spéciale sur la chimie *click* (pages 1233-1408).

³¹ Heany, F., *Eur. J. Org. Chem.*, **2012**, 3043-3058.

réagit avec un alcyne pour former un isoxazole (au lieu du triazole). Tel que pour la «click» catalysée au cuivre ou au ruthénium, les résultats obtenus ici selon le catalyseur sont différents, soient respectivement des additions 3,5 (comparativement à 1,4 pour le triazole) et 3,4 (versus 1,5 pour le triazole).

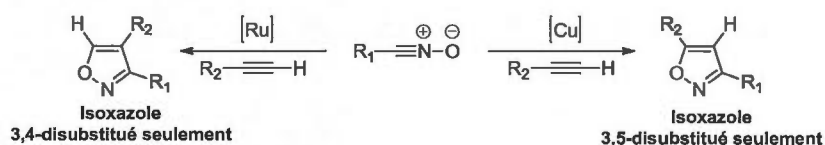


Schéma 2.8 NOAC catalysée au ruthénium ou au cuivre.

Le laboratoire Roy a d'ailleurs déjà utilisé cette version de la «click chemistry» sur des glycoconjugués dérivés du galactose dans le but de synthétiser des inhibiteurs des galectines 1 et 3.³²

2.3 Exemples de triazoles en remplacement d'un amide dans des peptides cycliques

Le motif 1,2,3-triazole possède des caractéristiques semblables à celles des peptides, soient un fort dipôle et des accepteurs de ponts hydrogènes, ce qui en fait une structure isostère. Ils ont aussi des aspects différents et intéressants. Par exemple, ils sont plus stables face au métabolisme.³³ Pour cette raison, leur incorporation dans une structure peptidomimétique est intéressante et peut mener à une activité biologique différente. Les exemples qui suivent illustrent le travail de plusieurs chercheurs ayant tenté d'améliorer la stabilité ou l'activité biologique de composés naturels.

³² Giguère, D., Patnam, R., Bellefleur, M.-A., St-Pierre, C., Sato, S., Roy, R., *Chem. Comm.*, **2006**, 22, 2379-2381.

³³ Pedersen, D.S., Abell, A., *Eur. J. Org. Chem.*, **2011**, 2399-2411.

Le cyclo-[L-Pro-L-Val-L-Pro-L-Tyr] **33** est un cyclotétrapeptide inhibiteur de la tyrosinase, une enzyme impliquée dans plusieurs phénomènes dermatologiques chez les humains.³⁴ Isolé pour la première fois en 1993, il n'a toujours pas été synthétisé sous sa forme entièrement L : l'état de transition nécessaire à la cyclisation par couplage peptidique n'est pas favorable au composé linéaire (les fonctions complémentaires sont trop éloignées l'une de l'autre). Le groupe de Van Maarseveen a constaté cette difficulté et décidé de synthétiser un composé imitant ce cyclotétrapeptide en remplaçant une des liaisons amides par un triazole. Alors que la lactamisation menant au cyclotétrapeptide initial est impossible en laboratoire, la *click* menant au cyclo-[L-Pro-L-Val-ψ(triazole)-L-Pro-L-Tyr] **35** est réussie à 70% (Schéma 2.9).

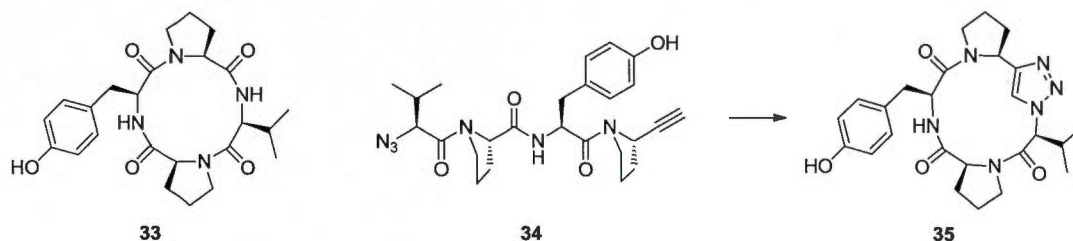


Schéma 2.9 Formation d'un cyclotétrapeptide par *click* (**35**) au lieu d'un couplage peptidique (**33**).

Le peptidomimétique **35** possède des propriétés biologiques trois fois plus importantes face à la tyrosinase ($CI_{50} = 0.6$ mM) que celles du cyclopeptide **33** ($CI_{50} = 1.5$ mM). Ceci encourage à envisager de façon plus approfondie les conséquences de la substitution des liens amides par des triazoles lors de la confection de peptidomimétiques cycliques.³⁴

Un autre groupe a procédé à une modification semblable sur le composé cyclique dimère Smac **36**, une protéine mitochondriale.³⁵ Elle possède une activité inhibitrice intéressante face aux cellules malignes de certains cancers. Pour cette raison, Wang et al.³⁵

³⁴ Bock, V.D., Perciaccante, R., Jansen, P., Hiemstra, H., Van Maarseveen, J.H., *Org. Lett.*, **2006**, *8*, 919-922.

³⁵ Wang, S. et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, *20*, 3043-3046.

ont travaillé à l'optimisation de sa structure. Ainsi, deux liaisons amides ont été remplacées par deux triazoles et un carbone supplémentaire dans la chaîne saturée (**37**). De plus, le groupement benzyle a été échangé par un groupement phényle (**38**). Le caractère peptidique est ainsi diminué et l'activité cellulaire est augmentée.

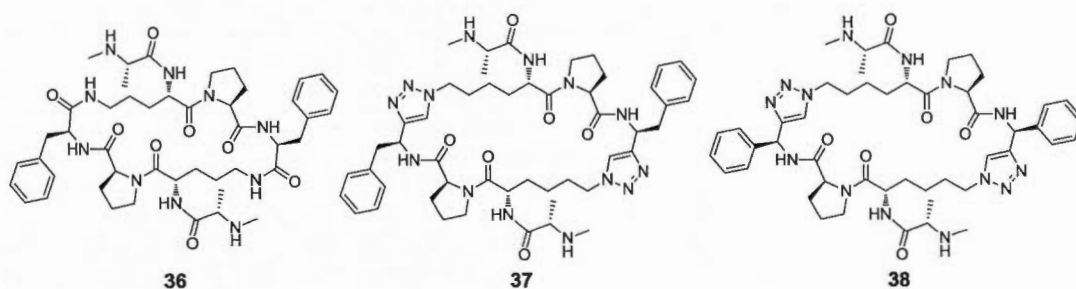


Figure 2.1 Structure du dimère Smac **36** et de deux dérivés.

En effet, bien que le composé **37** possède une activité plus intéressante que celle de **36**, le composé **38** indique une activité inhibitrice 5 à 8 fois plus importante face aux cellules de croissance des cancers du sein et des ovaires. Les valeurs sont des concentrations inhibitrices de 4.6 et 15.9 μM pour le composé **36**, de 25.9 et 31.5 μM pour **37** et de 1.0 et 2.1 μM pour **38** envers les cellules cancéreuses du sein et des ovaires respectivement.³⁵

CHAPITRE III

Acides aminés glucidiques cycliques

Les recherches centrées sur les glycoconjugués cycliques composés de peptides ont été entamées dans les dernières années. Les glycopeptidomimétiques cycliques sont depuis constamment modifiés de façon à imiter le mieux possible les composés naturels tout en améliorant leurs activités biologiques. L'utilisation d'un sucre dans une structure peptidique pourrait permettre d'augmenter la stabilité physiologique du composé³⁶ et les propriétés des peptides pourraient être accentuées³⁷.

Overhand, Fleet et al. ont publié en 2007 un document indiquant les structures des *sugar amino acid* (SAA) rapportées jusqu'à ce jour.³⁸ Ces composés, dont la base est constituée d'un hétérocycle de 3, 4, 5 ou 6 atomes dont un oxygène (ou un azote) rappelant la structure de divers sucres, possèdent un acide et une amine à titres de substituants. Selon la position des substituants et leurs stéréochimies, les combinaisons possibles sont très diversifiées. Sur la Figure 3.1 sont illustrées des structures sélectionnées venant des publications mentionnées ci-dessus.

³⁶ Gruner, S.A., Kéri, G., Schwab, R., Venetianer, A., Kessler, H., *Org. Lett.*, **2001**, 3, 3723-3725.

³⁷ Kessler, H. et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, 39, 2761-2764.

³⁸ a) Risseuw, M.D.P., Overhand, M., Fleet, G.W.J., Simone, M.I., *Tetrahedron : Asymmetry*, **2007**, 18, 2001-2010 ; b) Risseuw, M.D.P., Overhand, M., Fleet, G.W.J., Simone, M.I., *Amino Acids*, **2013**, 45, 613-689.

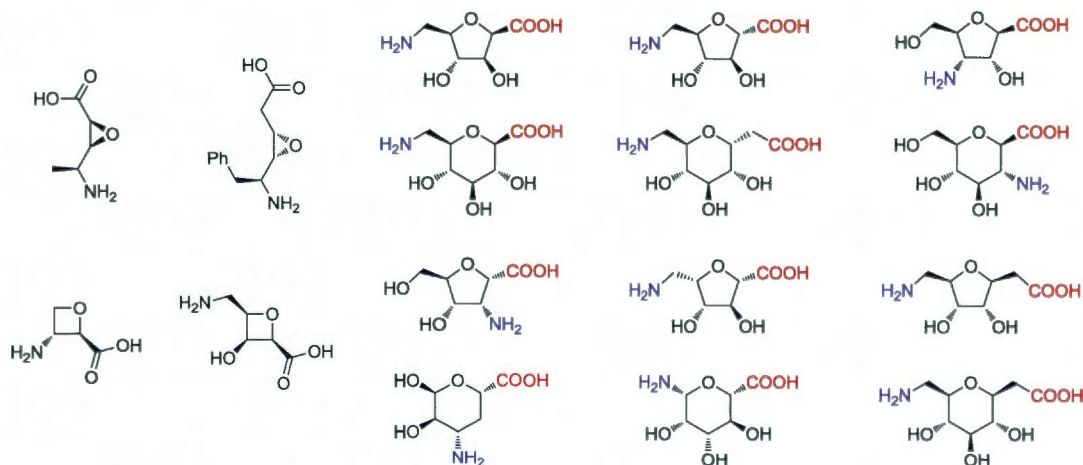


Figure 3.1 Structure de quelques-uns des acides aminés glucidiques répertoriés^{37,38}.

Lors d'une séquence réactionnelle menant à un oligopeptide (cyclique ou non) basé sur un SAA, il peut y avoir un repliement de chaîne provoqué par la position de l'acide et de l'amine de ce dernier. Ce repliement peut imiter celui d'une certaine protéine. On obtient ainsi un peptidomimétique qui peut, si la structure du SAA le permet, être aussi glycomimétique. Les avantages des fonctionnalités acides et amines des acides aminés et la rigidité du cycle glucidique sont ainsi jumelés.³⁹ Ces composés glycopeptidomimétiques pourraient être intéressants à titre de nouveaux médicaments ou antibiotiques.

Kessler et al. ont d'ailleurs utilisé un motif SAA pour la préparation d'un peptidomimétique analogue de la Somatostatine. Cet analogue est constitué de la partie active de la Somatostatine⁴⁰, un polypeptide cyclique de 14 ou 28 acides aminés (deux formes actives). Il s'agit de l'hexapeptide **39** comportant deux phénylalanines, une proline, une D-tryptophane, une lysine et une thréonine, soit le cyclo[L-Phe-L-Pro-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr].³⁹ Le SAA **40** utilisé par les auteurs y est aussi montré, de même que le peptidomimétique composé de ce dernier et de quatre des six acides aminés de l'analogue **39**.

³⁹ Kessler, H. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 10156-10167.

⁴⁰ Kessler, H. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, 105, 6944-6952.

Un β -turn plutôt flexible est imposé à la structure du peptidomimétique **41** par la position des fonctions acide et amine : le repliement du cycle est favorisé par ce fait.

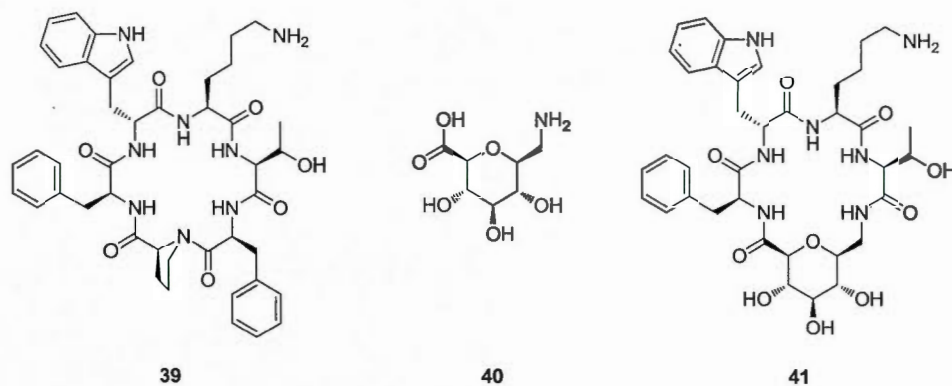


Figure 3.2 Structures d'un polypeptide cyclique **39** composé de la partie active de la Somatostatine, de l'acide aminé glucidique **40** incorporé dans la structure de ce dernier et du composé **41** résultant du remplacement de deux acides aminés.

Les analyses RMN du composé **41** ont indiqué que le SAA est retrouvé dans la conformation chaise 4C_1 et que les liaisons amides sont toutes *trans*. Les tests biologiques ont indiqués, quant à eux, que le composé **41** possède une concentration inhibitrice de 0.15 μ M, ce qui est environ 75 fois moins actif que l'analogue **39** de la Somatostatine. Selon les auteurs, leur composé ne comportant pas les acides aminés lipophiles nécessaires à l'activité biologique, ce résultat montre quand même un certain caractère mimétique de la Somatostatine. Les repliements désirés semblent ainsi avoir été obtenus. En revanche, pour tenter d'améliorer ces résultats, il serait intéressant de modifier la stéréochimie d'un des carbones du SAA **40**, de protéger un des groupements hydroxyles ou d'utiliser un acide aminé D au lieu de la version naturelle L, par exemple.³⁹

En 2001, Kessler et al. ont suggéré la synthèse d'analogues de la Somatostatine incluant un dérivé furanose (comme le **42**) dans le but ultime de contrer la résistance à la

chimiothérapie.⁴¹ Suite au développement de ces analogues, ils ont été testés *in vitro*. L'analyse des divers résultats obtenus indique qu'un groupement aromatique volumineux situé sur le résidu L-thréonine semble essentiel à la conservation du potentiel chimiothérapeutique envers les cellules carcinomes. De plus, le résidu D-benzothiénylalanine (D-Bta), qui remplace le D-tryptophane (D-Trp) permet d'améliorer l'activité de tels analogues, de même que leur stabilité face aux enzymes par rapport aux versions L-Bta et L-Trp. Celui présenté ici (**43**) a permis la meilleure activité biologique, soit un potentiel inhibiteur des tumeurs bénignes du foie.

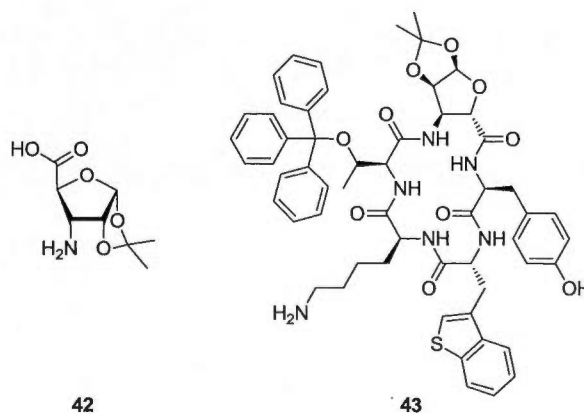


Figure 3.3 Acide aminé glucidique (**42**) incorporé dans la structure d'un dérivé de la Somatostatine et analogue **43** résultant.

Les glycoconjugués composés d'acides aminés ayant été décrits comme des molécules intéressantes pour contourner les contraintes conformationnelles de divers analogues, le groupe d'Overhand a entrepris la synthèse de composés potentiellement inhibiteurs des récepteurs des intégrines responsables de divers phénomènes tels que l'angiogénèse, la métastase des tumeurs et l'aggrégation des plaquettes.⁹

⁴¹ Kessler, H. et al., *Org. Lett.*, **2001**, 3, 3723-3725.

La séquence Arg-Gly-Asp (RGD) linéaire a permis de bons résultats envers ces récepteurs, alors que l'analogue cyclique les a améliorés. Ceci pourrait être expliqué par une meilleure stabilité face au métabolisme et par leur faible flexibilité.

Le groupe a décidé d'ajouter un dérivé du furanose à la structure cyclique du tripeptide en souhaitant obtenir des données plus intéressantes encore. Ainsi, ce dérivé a été ajouté entre l'arginine et l'asparagine. Des analogues plus développés ont aussi été synthétisés, mais le **44**, illustré ci-dessous, a permis les résultats les plus prometteurs. En effet, des concentrations inhibitrices de 1.49 μ M et 384 nM envers les deux récepteurs intégrines ont été obtenues.⁹

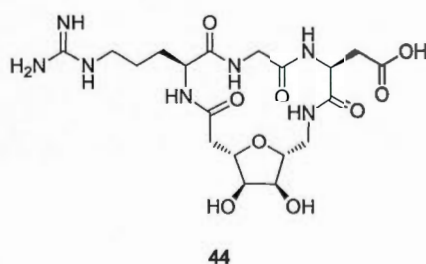


Figure 3.4 Structure de l'analogue cyclique et glucidique du RGD (**44**).

Lors de l'installation d'un acide aminé supplémentaire, l'activité a chuté (Arg-Gly-Asp-Val). Lors du réarrangement de cette séquence, elle est même devenue nulle à la concentration étudiée (Gly-Val-Asp-Arg). Aussi, la présence de deux dérivés furanoses provoque une baisse importante de l'activité et lorsque deux dérivés furanoses étaient présents mais que la séquence RGD était brisée, l'activité était aussi nulle.⁹ Ces résultats indiquent qu'il y a moyen d'améliorer l'activité biologique, mais lui nuire est aussi possible, entre autres si le tripeptide est modifié.

La Gramicidine S (**45**) est un antimicrobien naturel constitué de dix acides aminés incluant une symétrie, soit deux fois chacun des acides aminés.⁴² Ce décapeptide s'accumule à l'intérieur de la bicouche membranaire des cellules bactériennes et provoque leur lyse, soit

⁴² Overhand, M. et al., *J. Org. Chem.*, **2004**, 69, 7851-7859.

leur mort par désintégration de la membrane cellulaire. Malheureusement, un effet secondaire observé est une toxicité envers les globules rouges (activité hémolytique). Le composé est donc vendu sous forme d'onguent pour une application topique seulement. Overhand et al. ont travaillé à la synthèse de divers analogues de la Gramacidine S **45** par incorporation d'un ou deux SAA dans sa structure en remplacement de deux acides aminés.⁴² L'activité biologique était perdue presque entièrement lorsque deux SAA étaient utilisés, de même que la toxicité. En revanche, lorsqu'un seul dérivé du furanose est employé, tel que pour l'exemple **46** illustré ci-dessous, l'activité biologique se voit diminué considérablement (par exemple ΔCI_{50} de 4 à 64 $\mu\text{g/mL}$ contre la *S. Aureus*), mais la toxicité aussi. La concentration à laquelle une toxicité hémolytique de 50% est observée est dix fois plus importante pour l'analogue **46** ($\text{CH}_{50} \approx 325 \mu\text{M}$) que pour la Gramacidine S **45** ($\text{CH}_{50} = 32 \mu\text{M}$).⁴²

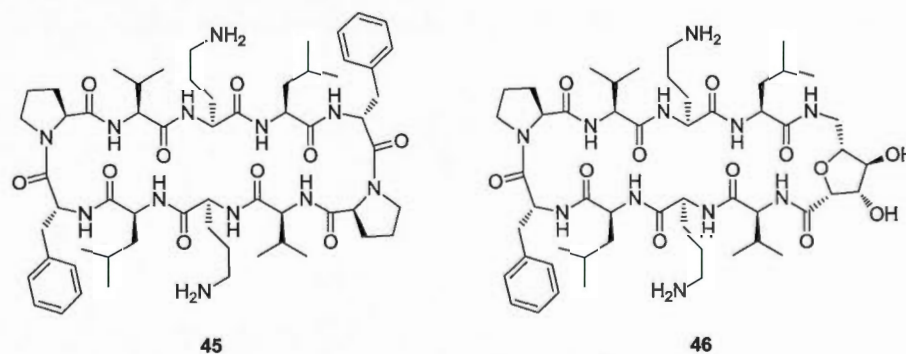


Figure 3.5 Structures de la Gramacidine S (**45**) et de son analogue glucidique (**46**).

Dans une publication ultérieure, les auteurs ont retravaillé sur la structure des analogues dans le but d'étudier le lien entre l'activité biologique et la toxicité hémolytique.⁴³ D'un côté, ils ont déterminé que la présence d'un substituant aromatique est nécessaire à l'activité. Pour cela, ils ont ajouté un groupement aromatique sur un des hydroxyles du SAA, tel qu'illustré sur la Figure 3.6.

⁴³ Overhand, M. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 7559-7565.

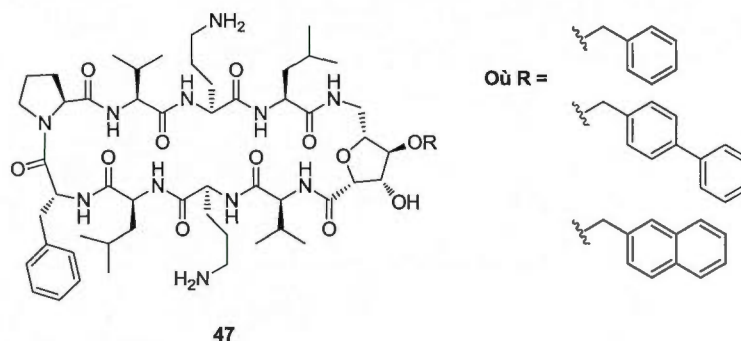


Figure 3.6 Structures de l'analogue optimisé.

Selon les résultats de leurs travaux, cette position ne participe pas aux liaisons hydrogènes. Les résultats biologiques obtenus étaient très intéressants. En revanche, une augmentation de l'activité biologique (diminution de la concentration inhibitrice) impliquait aussi une toxicité accrue (diminution de la concentration hémolytique).

Les résultats de Overhand et de ses collègues ont encouragé Kunwar et al. à synthétiser des glycopeptidomimétiques composés de deux SAA et de quatre acides aminés, incluant des non-naturels.⁴⁴ Ils ont aussi incorporé une charge positive sur un des substituants du sucre présent. Selon eux, les antimicrobiens dont la structure contient des peptides cationiques sont une source d'antibiotiques alternative potentielle : ils sont déjà présents dans les systèmes immunitaires de plusieurs vertébrés, dont entre autres les humains. En revanche, tel que mentionné précédemment, l'activité hémolytique est à surveiller lors des tests biologiques de tels composés. La Figure 3.7 montre le type de composé qu'ils ont préparé.

⁴⁴ Kunwar, A.C. et al., *J. Org. Chem.*, **2008**, 73, 8731-8744.

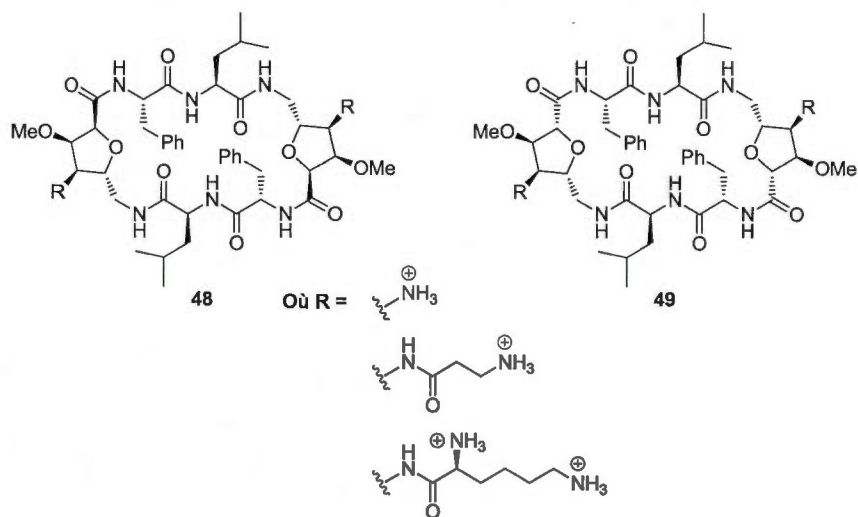


Figure 3.7 Acides aminés glucidiques cycliques.

Les résultats des tests biologiques sont encourageants : cinq des six composés font preuve d'une activité importante contre quatre souches de bactéries Gram-négative et Gram-positive de la même façon que la Gramicidine S. En effet, ils procèdent à la lyse de la cellule par leur accumulation à l'intérieur de la bicouche membranaire. Les résultats permettent de conclure que le changement de substituant cationique provoque une modification des tendances hydrophobes et hydrophiles, ce qui fait varier l'activité de chacun. En effet, les composés **48** et **49** contenant le premier groupement R avaient une activité moins importante que ceux contenant le 2^e ou le 3^e, ce qui permet de conclure en l'importance d'une bonne hydrophilicité. Aussi, les composés dont les substituants des sucres en positions 2 et 5 sont disposés en *trans* (**48**) sont de manière générale plus actifs que ceux en *cis* (**49**). Finalement, les activités hémolytiques de chacun des composés étaient considérablement plus faibles que la toxicité de la bactérie *E. coli* elle-même. Par exemple, la présence d'un de ces composés à une concentration huit fois supérieure que celle de la bactérie possédait une activité correspondante aux deux tiers de celle de *E. coli*.⁴⁴

Les facteurs de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGFs) sont des stimulants de l'angiogénèse. L'angiogénèse tumorale est aussi permise par ces VEGFs. L'équipe de

Schmidt et al. a tenté la synthèse de composés inhibiteurs de la liaison de ces homodimères sur les récepteurs VEGFRs.⁴⁵ Puisque des dérivés du facteur VEGF-D ont déjà été synthétisés et ont démontré leur efficacité contre les liaisons VEGF-D – VEGFR, les auteurs ont décidé de procéder d'une façon semblable et d'aussi synthétiser des analogues glucidiques. La partie du VEGF-D visée est représentée ci-dessous.

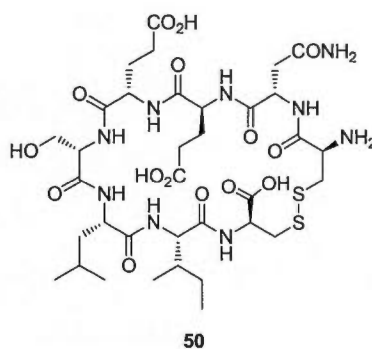


Figure 3.8 Section du VEGF-D visé par les auteurs.

Puisque les motifs d'hydrates de carbones se sont montrés utiles par le passé, les auteurs ont entrepris la synthèse des composés illustrés ci-dessous. Ils souhaitent pouvoir profiter de la rigidité, la stéréochimie et les fonctionnalités diversifiées apportées par la présence des sucres dans les structures.

⁴⁵ Haag, T., Hughes, R.A., Ritter, G., Schmidt, R.R., *Eur. J. Org. Chem.*, **2007**, 6016-6033.

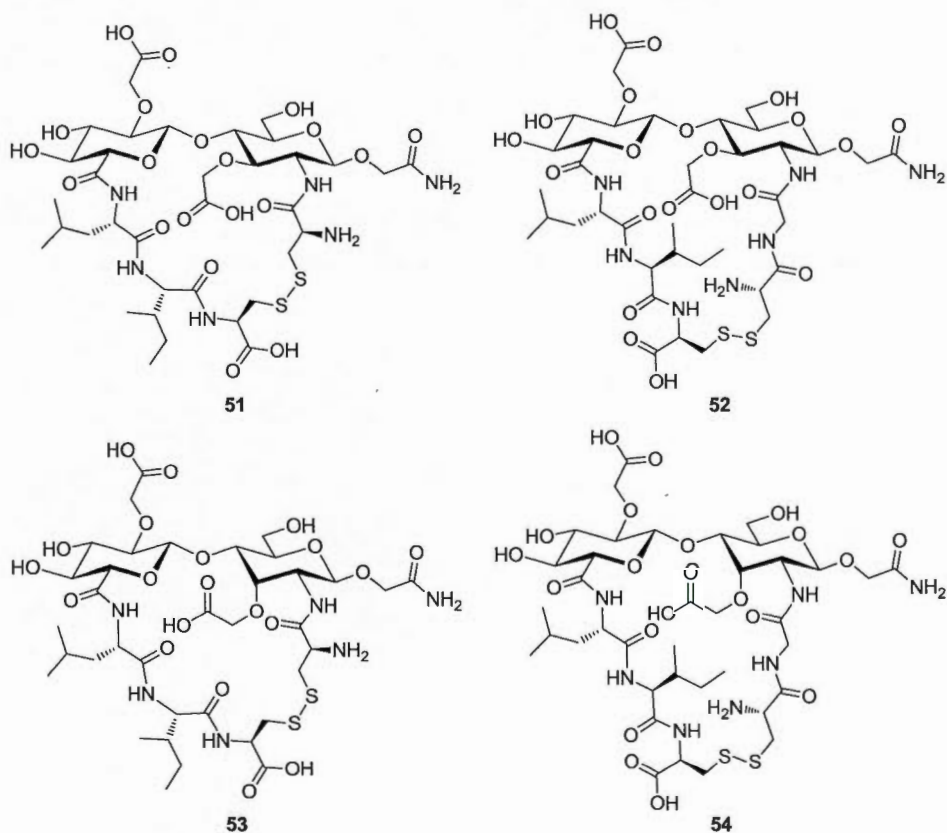


Figure 3.9 Structures des analogues glucidiques du VEGF-D **50** étudiés.

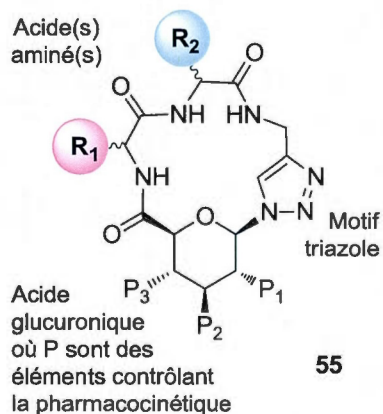
Quelques résultats d'analyses biologiques sont mentionnés par les auteurs. Par exemple, le composé **52** permet une inhibition de 20% à une concentration de 0,1 mM alors que le composé **54** inhibe 35% à une même concentration.⁴⁵ Ils ne sont donc pas aussi actifs que l'octapeptide original, dont l'activité n'est pas mentionnée dans la publication. Les auteurs se sont plutôt dirigés vers l'écriture d'un brevet.⁴⁶

⁴⁶ Achen, M.G. et al., *United States Patent, No. US 7,045,133 B2, 2006, 25 pages.*

3.1 Objectifs du présent projet

Suite à la revue littéraire du présent chapitre et des précédents, les objectifs synthétiques peuvent être plus facilement expliqués. En effet, la combinaison des peptides cycliques, du motif triazole ainsi que des sucres permet de constater l'utilité et la diversité d'un projet tel que celui présenté ici.

Les acides aminés glucidiques cycliques à motifs triazoles visés sont composés d'un sucre en particulier, l'acide glucuronique, du motif triazole et de quelques acides aminés naturels qui seront introduits. Voici la structure globale visée par le présent projet.



55

Figure 3.10 Structure générale et schématisée des composés visés par le présent projet.

Les groupements R₁ et R₂, retrouvés sur les acides aminés de départ, ainsi que les groupements P₁, P₂ et P₃, initialement retrouvés sur l'acide glucuronique mais pouvant être modifiés par exemple par protection et déprotection, rendront chacune des molécules uniques. Ils permettraient l'inhibition des interactions protéines-protéines (PPIs) plus ou moins fortes. Un autre objectif est de diversifier les structures synthétisées : des sucres et acides aminés différents peuvent être employés dans le but de varier l'étendue du projet et de moduler la capacité inhibitrice des interactions protéines-protéines résultantes.

La résonance magnétique nucléaire, la spectroscopie infrarouge et la spectrométrie de masse seront utilisés pour vérifier les structures, la stéréochimie ainsi que la pureté de chacun des produits synthétisés.

CHAPITRE IV

Synthèses parallèles de l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucupyranuronique 61 et des peptides propargylés

La première section de ce chapitre est dédiée à la synthèse du sucre utilisé pour tous les couplages retrouvés plus loin alors que la suivante a pour thème la préparation des peptides propargylés.

4.1 Synthèse et études structurales de l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucupyranuronique 61

4.1.1 Synthèse

Le sucre commercial utilisé en tant que réactif initial est l'acide D-glucuronique. L'utilisation de ce dernier peut être justifiée par son coût accessible et le fait qu'une fonction acide, utile aux étapes ultérieures illustrées plus bas, est déjà installée sur la position 6. Cet avantage permet d'éviter certaines étapes synthétiques, par exemple l'oxydation du carbone C-6 dans le cas où le D-glucose devait être employé.

La première étape, plutôt commune en chimie des sucres, est la protection des groupements hydroxyles. La méthode usuelle de protection de l'acide et des hydroxyles de l'acide D-glucuronique par l'anhydride acétique et l'iode⁴⁷ est employée ici avec un

⁴⁷ Murphy, P.V. et al., *J. Org. Chem.*, **2005**, 70, 4096-4106.

rendement de 78% suite à la précipitation de l'anomère β , pour l'obtention du composé **56** propre et connu.⁴⁸

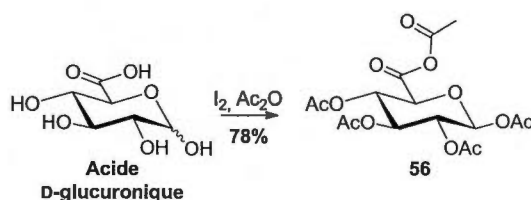


Schéma 4.1 Protection de l'acide et des hydroxyles avec I_2 et Ac_2O .

Le composé **56** est ensuite utilisé pour la glycosylation à l'aide de l'azoture de triméthylsilyle et d'acides de Lewis. Quelques conditions ont été testées, mais des mélanges de composés ont été obtenus à chaque fois. Ces derniers résultaient d'une α -glycosylation majoritaire et d'une β -glycosylation minoritaire dont les ratios différaient et n'ont pas nécessairement été calculés. Une simple analyse des spectres RMN- 1H correspondants a permis de conclure en ces résultats indésirés. Le Schéma 4.2 indique les deux catalyseurs de Lewis testés.

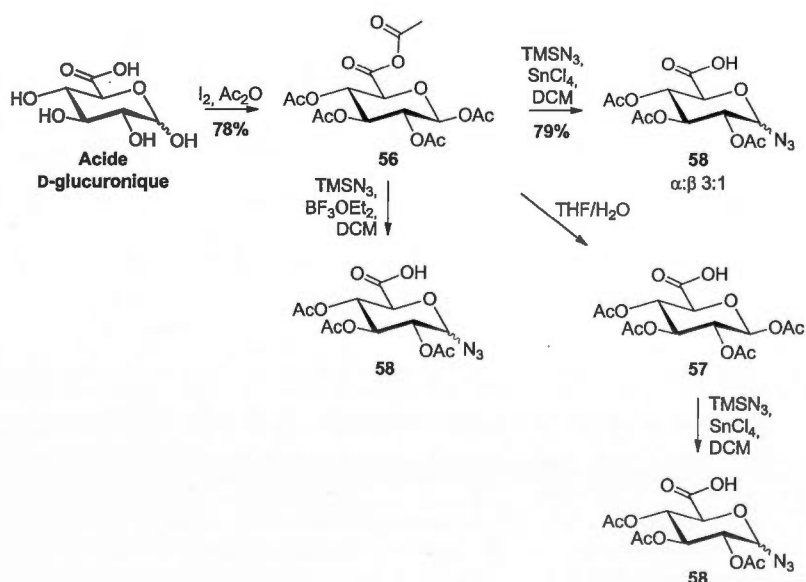


Schéma 4.2 Premières méthodes d'installation de l'azoture.

⁴⁸ Ravindranathan Kartha, K.P., Field, R.A., *Tetrahedron*, 1997, 53, 11753-11766.

Tel que suggéré par Murphy et al.^{47,49}, le manque de protection stable sur l'acide et la présence du catalyseur de Lewis SnCl_4 (ou $\text{BF}_3(\text{OEt}_2)$) pourraient favoriser la formation d'un intermédiaire plus stable, la lactone **59**, suite à diverses stabilisations électroniques. Celle-ci, formée entre le carbone anomérique et l'oxygène de l'acide en position 6, rend la face supérieure du sucre (la face β) moins accessible que la face inférieure (la face α). Ceci peut être visualisé ci-dessous.

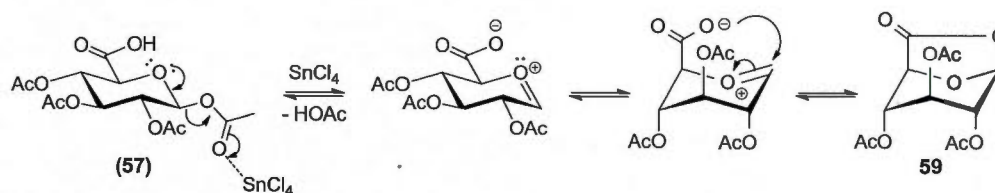


Schéma 4.3 Mécanisme de la formation de l'intermédiaire lactone **59** avec l'acide en position 6 et SnCl_4 en tant qu'acide de Lewis.

Dû à cette contrainte physique et anchimérique, la réaction de glycosylation est favorisée sur la face inférieure. Les divers ratios des mélanges obtenus seraient ainsi justifiés. Le Schéma 4.4 illustre les divers équilibres impliqués.⁴⁹

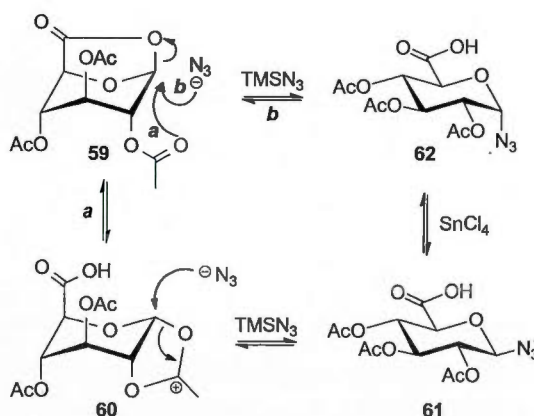


Schéma 4.4 Équilibres impliquant l'installation de l'azoture en α ou en β .

⁴⁹ Murphy, P.V., *Chem. Eur. J.*, 2007, 13, 902-909.

Dans le but de contrer la formation de ces mélanges α/β , une protection sous forme d'ester allylique, choisie pour sa stabilité, est installée sur l'acide en position 6.⁴⁷

La première méthode utilisée pour l'installation de l'alcool allylique est en fait une activation de l'acide avec DCC en présence de pyridine suivie de l'ajout de l'alcool allylique. Le tout a permis la formation de l'ester **63** avec un rendement de 82%. La glycosylation subséquente a été effectuée à l'aide de TMSN_3 et de SnCl_4 , tel que déjà illustré, avec un rendement de 77% (**64**).

L'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique **61** est donc obtenu grâce à un mécanisme de glycosylation connu utilisant l'assistance anchimérique de l'acétate en position 2 et en l'absence d'une participation anchimérique par l'acide en C-6.

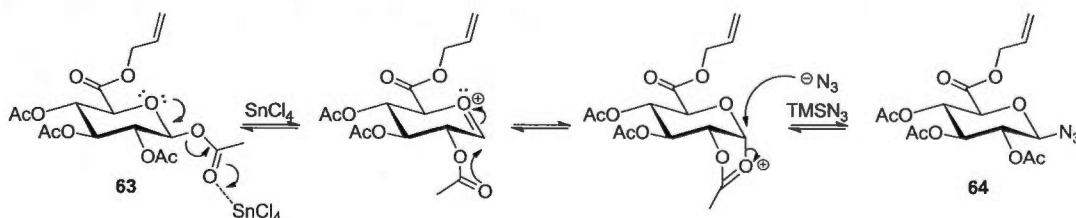


Schéma 4.5 Mécanisme de l'installation stéréosélective de l'azoture en β par assistance anchimérique sur la face α .

La déprotection de l'acide **64** envisagée, permise par le catalyseur organométallique $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ et la base pyrrolidine, permet d'ailleurs un rendement correct de 59%.^{47,50}

La glycosylation procédant en β tel que souhaité, la faisabilité de la séquence est ainsi prouvée et celle-ci peut être conservée. En revanche, l'utilisation du DCC oblige la formation du sous-produit 1,3-dicyclohexylurée qui complique la purification de l'ester allylique (et des produits subséquents si des traces du sous-produit persistent). Il a donc été décidé de procéder tel que mentionné par Murphy et al.⁴⁷ et d'installer la protection par l'intermédiaire de la formation d'un chlorure d'acyle ($(\text{COCl})_2$, DMF et pyridine suite à la déprotection de l'acide pour faciliter le tout).

⁵⁰ Chandrasekhar, S., Raji Reddy, C., Jagadeeshwar, R., *Tetrahedron*, **2001**, 57, 3435-3438.

L'installation de l'ester allylique par cette seconde voie implique la formation du réactif de Vilsmeier selon le mécanisme suivant. Ce réactif est formé par réaction entre le solvant (DMF) et le $(\text{COCl})_2$ et permet l'activation de l'acide retrouvé en position 6 du sucre **57**. Cette position est ensuite assez réactive pour être attaquée par l'alcool allylique et libérer le DMF. Ce dernier peut donc être utilisé en quantité catalytique (il est régénéré lors de sa dissociation du sucre).

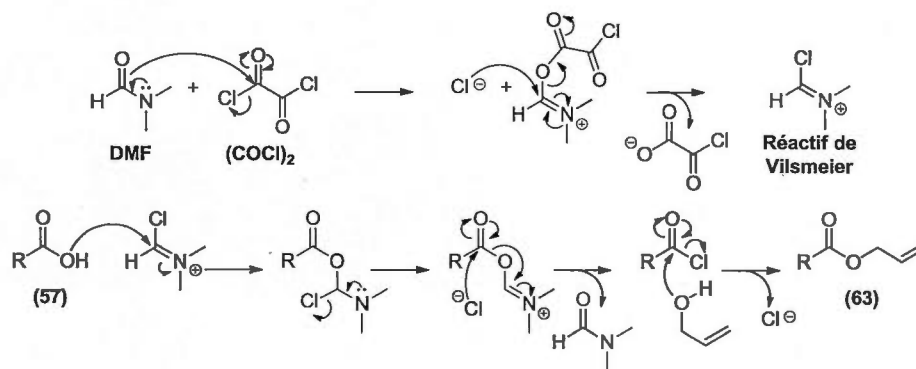


Schéma 4.6 Mécanisme de l'installation de la protection allylique sur **57**.

Le schéma suivant illustre ces nouvelles conditions et les rendements optimisés.

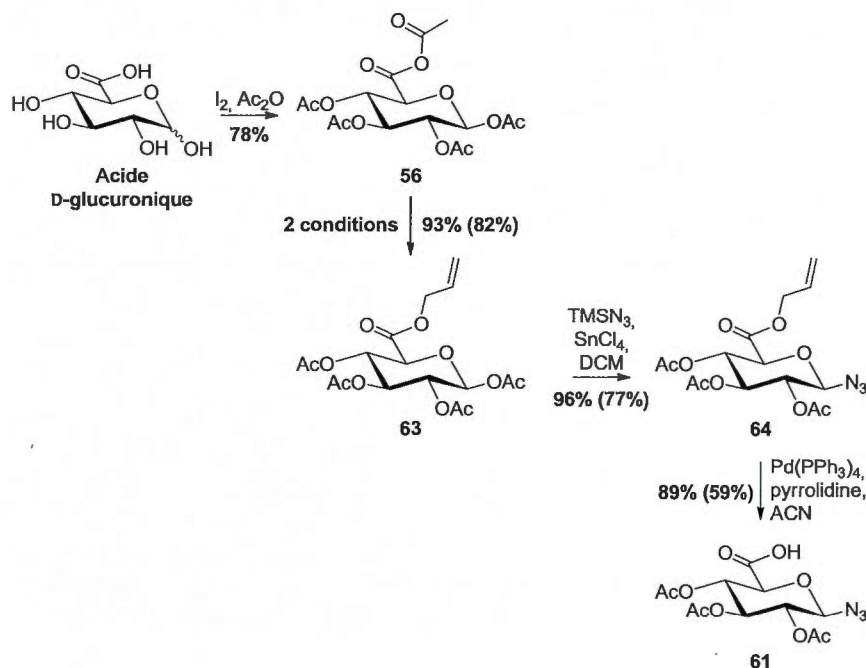


Schéma 4.7 Voie de préparation de l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1- désoxy-β-D-glucopyranuronique **61** (Conditions 1 : CH₂=CHCH₂OH, DCC, pyridine, DCM ; Conditions 2 : 1. THF/H₂O puis 2. a) (COCl)₂, pyridine, DMF, DCM, b) CH₂=CHCH₂OH).

Un rendement de 93% est obtenu pour l'installation de la protection par cette méthode en comparaison à 82% pour la façon précédente. Les rendements de 77% pour la glycosylation et de 59% pour la déprotection sont d'ailleurs optimisés à 96% et 89% respectivement suite à l'élimination de la contrainte apportée par la présence du sous-produit dicyclohexyluré.

4.1.2 Études structurales de **61**

Avant de procéder aux couplages indiqués plus bas, la présence de l'azoture en position β-anomérique devait être prouvée. Pour y parvenir, les analyses infrarouges (IR) et la résonance magnétique nucléaire du proton (RMN-¹H) ont été exploitées.

D'abord, le spectre IR ci-dessous indique clairement la présence de la fonction acide (3379 cm^{-1}), des diverses bandes $\text{C}=\text{O}$ (1742 et 1634 cm^{-1}) et des bandes $\text{C}-\text{O}$ (1376 cm^{-1}). La bande à 2117 cm^{-1} est ici la plus importante. Elle représente les liaisons retrouvées dans le groupement fonctionnel N_3 , l'azoture. Sa présence est donc confirmée.

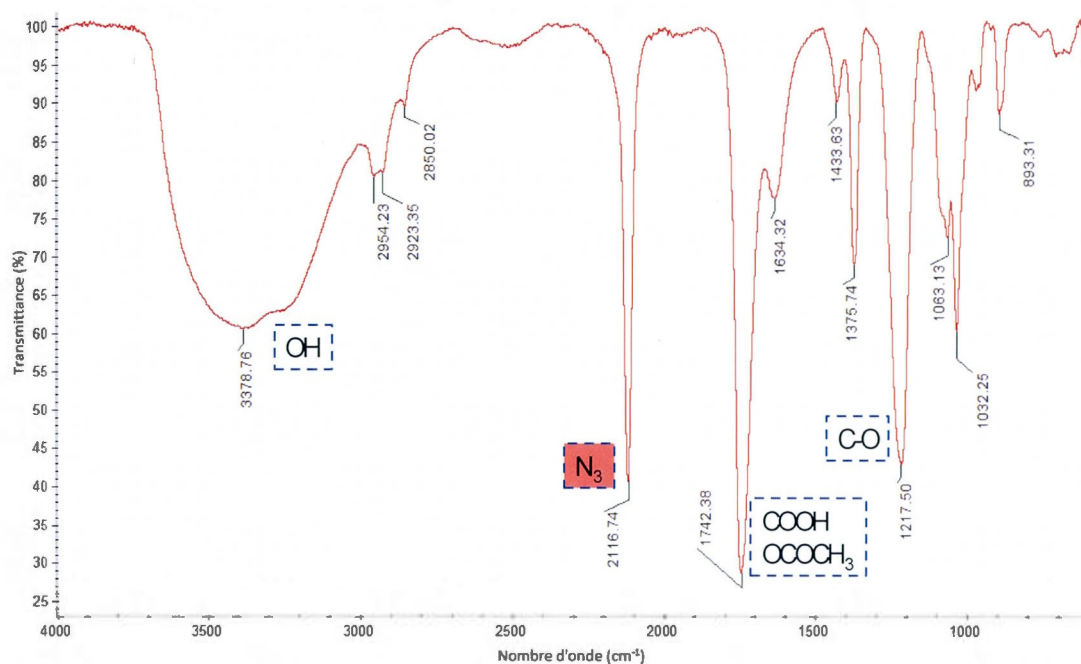


Figure 4.1 Spectre IR de l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique **61**.

Après avoir prouvé la présence de l'azoture, la stéréochimie du carbone anomérique le supportant devait être investiguée. Les hydrogènes 1 et 2 peuvent partager des interactions *anti* (**61**) ou *gauche* (**62**) selon la stéréochimie du carbone 1. La Figure 4.2 illustre les deux options ayant pu se produire (anomère α vs β).

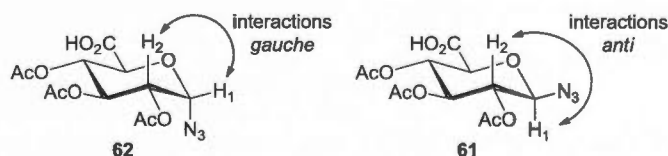


Figure 4.2 Structures et interactions impliquées selon l'anomère α (**62**) ou β (**61**).

Le spectre RMN- ^1H correspondant au composé isolé est inséré ci-dessous.

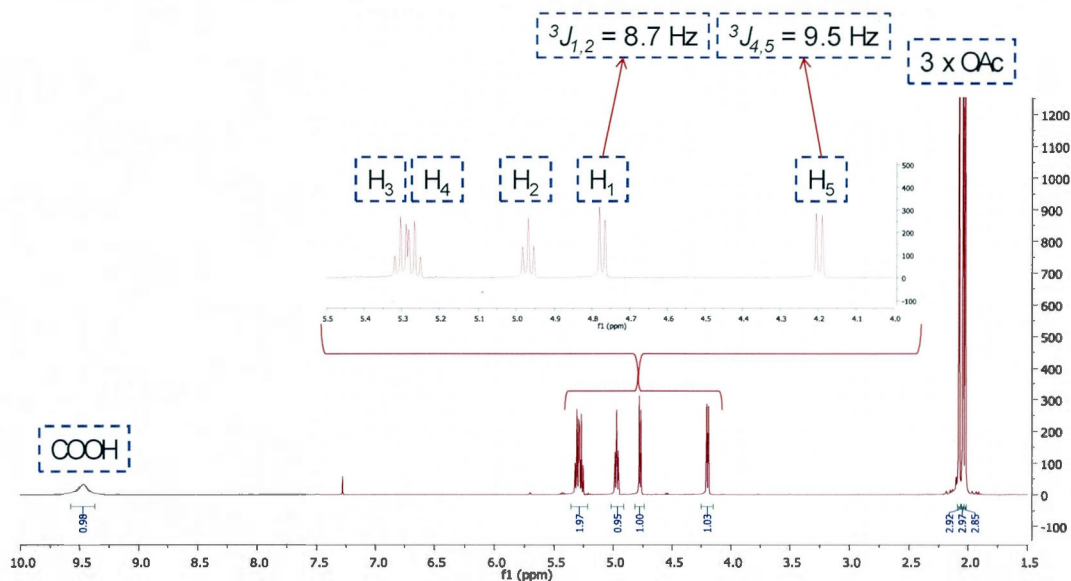


Figure 4.3 Spectre RMN- ^1H de l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique **61**.

La constante de couplage de l'hydrogène H₁ ($^3J_{1,2}$) du sucre est, selon le spectre RMN- ^1H ci-dessous, de 8.7 Hz. Cette valeur confirme l'interaction *anti* (180°) avec l'hydrogène H₂ (et non pas *gauche*, pour un anomère α , où une valeur d'environ 2 à 3 Hz (environ 60°) aurait été observée).⁴⁷ L'analyse de la courbe de Karplus présentée ci-dessous permet de l'affirmer pour une valeur énergétique supérieure à 8 Hz.⁵¹ L'azoture s'est donc bel et bien installé sur la face β .

⁵¹ Solomons, T.W.G., Fryhle, C.B., *Organic Chemistry*, Collection John Wiley and sons, 9^e édition, 2008, 1288 pages, page 385.

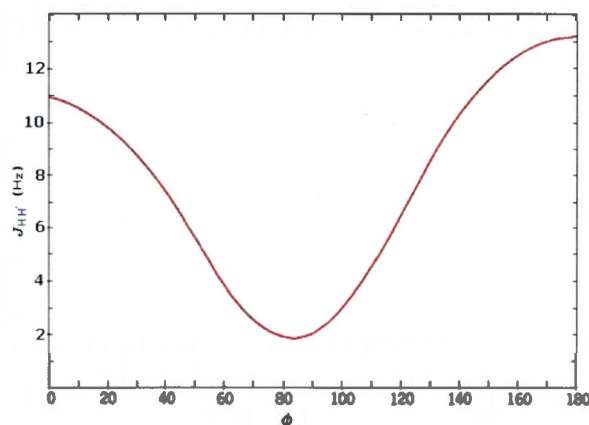


Figure 4.4 Courbe de Karplus⁵².

De plus, une constante de couplage semblable est observée pour l'hydrogène H₅ ($^3J_{4,5} = 9.5$ Hz). Ceci confirme un point important : la forme chaise préférée par le sucre est la 4C_1 (**61**), où tous les hydrogènes sont en *anti* par rapport aux autres, et non 1C_4 (**65**), où tous les hydrogènes subissent des interactions *gauche* entre eux⁴⁷, tel que représenté ci-dessous.

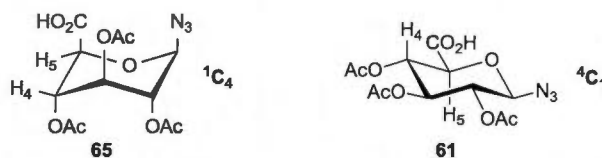


Figure 4.5 Conformations 1C_4 et 4C_1 de l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique **61**.

4.2 Synthèse des peptides propargylés

Les synthèses présentées ci-dessous ont été effectuées en parallèle avec celles déjà illustrées. Les peptides résultant sont déprotégés ici puis couplés à l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique **61** dans la section suivante.

⁵² William Reusch, 2013, *NMR Topics, Supplemental NMR Topics*, En ligne, <<http://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virttxtjml/spectrpy/nmr/nmr2.htm>>, consulté en avril 2013.

4.2.1 Séquence mono-peptide L-Phe et dipeptides L/D-Ala-L/D-Phe

Les acides aminés déjà protégés par le groupement Boc ont été privilégiés lorsqu'ils étaient disponibles commercialement puisque cela permettait d'éviter les premières protections. De plus, les déprotections en milieu acide sont simples et efficaces. La Boc-L-phénylalanine a été choisie dans le but d'installer un groupement chromophore sur les composés utilisés et d'ainsi faciliter le côté technique de leur synthèse (la révélation UV peut être exploitée pour suivre la réaction) alors que la Boc-L-alanine a été utilisée dans le but d'observer (et exploiter) le signal isolé du groupement méthyle en RMN-¹H.

L'acide présent sur la Boc-L-Phe a été protégé par fonctionnalisation à l'aide d'un couplage peptidique effectué avec la propargylamine en présence de IBCF et la NMM (**66**) selon une procédure adaptée de Gütschow et al.⁵³ Par la suite, l'amine a été déprotégée en conditions acides (obtention du monomère L-Phe-prop **67**) et couplé lui-même à la Boc-L-alanine en présence de HOBt, du EDC et de DIPEA (**68**) selon une procédure adaptée de Van Boom et al.⁵⁴ Une déprotection acide est ensuite effectuée dans le but de libérer l'amine (obtention du dipeptide L-Ala-L-Phe-prop **69**) et d'ainsi procéder au couplage peptidique avec le sucre préparé plus haut.

Le tripeptide L-Ala-L-Ala-L-Phe **71** a aussi été synthétisé dans les conditions précédentes. Il permettra de comparer les résultats permis par l'utilisation de ce dernier par rapport aux dipeptides précédents et au mono-peptide. La cyclisation sous forme monomérique pourrait être favorisée par l'allongement des molécules linéaires.

⁵³ Gütschow, M. et al., *J. Med., Chem.*, **2005**, 48, 7688-7707.

⁵⁴ Van Boom, J.H. et al., *Chem. Eur. J.*, **1997**, 3, 920-929.

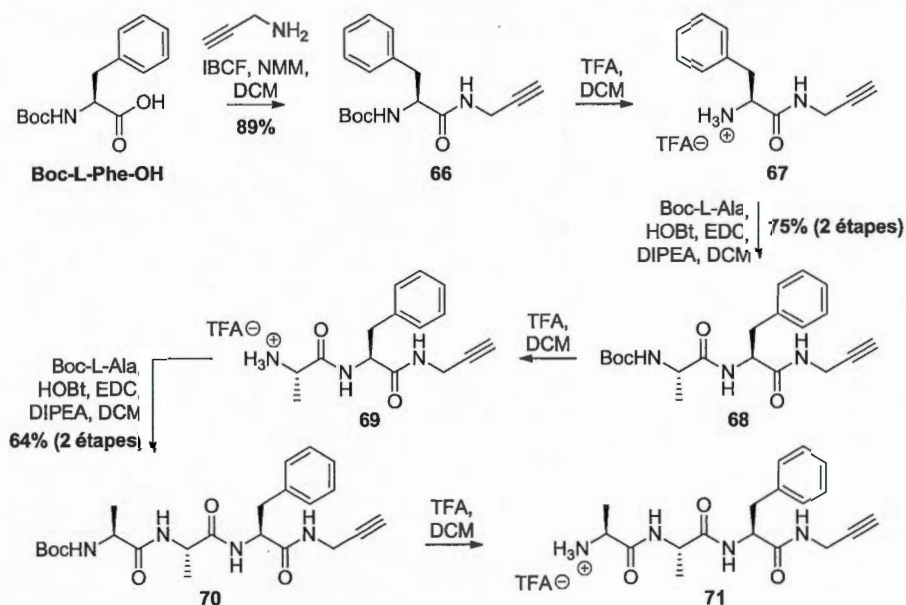


Schéma 4.8 Synthèse des peptides propargylés Boc-L-Phe-prop **66**, Boc-L-Ala-L-Phe-prop **68** et Boc-L-Ala-L-Ala-L-Phe-prop **70** et de leur version déprotégée **67**, **69** et **71**.

Les mêmes réactions sont effectuées sur les autres isomères des acides aminés ci-dessus, soient les Boc-D-phénylalanine et Boc-D-alanine, pour varier la stéréochimie du dipeptide étudié (Boc-D-Ala-L-Phe-prop **72** et Boc-L-Ala-D-Phe-prop **76**).

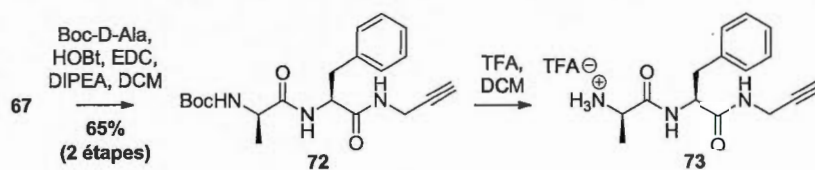


Schéma 4.9 Synthèse du peptide propargylé Boc-D-Ala-L-Phe-prop **72** et de sa version déprotégée **73**.

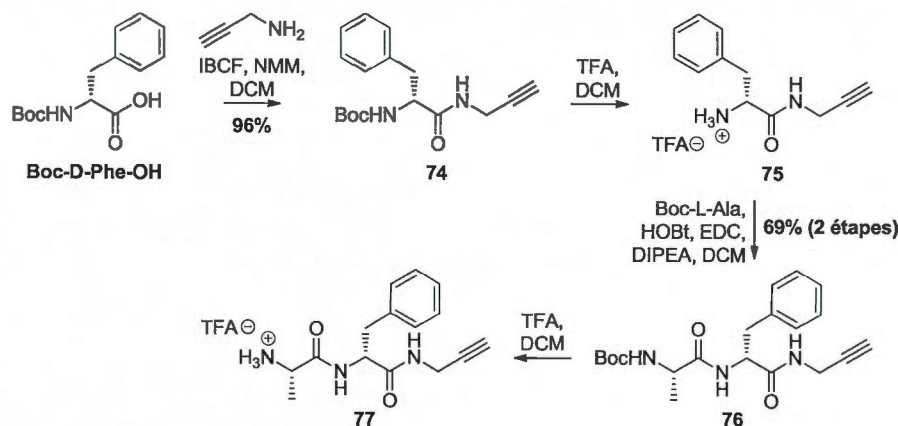


Schéma 4.10 Synthèse des peptides propargylés Boc-D-Phe-prop **74** et Boc-L-Ala-D-Phe-prop **76** et de leur version déprotégée **75** et **77**.

Les composés Boc-L-Phe-prop **66**, Boc-L-Ala-L-Phe-prop **68**, Boc-L-Ala-L-Ala-L-Phe-prop **70**, Boc-D-Ala-L-Phe-prop **72** et Boc-L-Ala-D-Phe-prop **76** sont ainsi obtenus, déprotégés et utilisés pour les couplages avec l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique **61**.

4.2.2 Séquence dipeptides et tripeptides (L-Ala)-L/D-Pro-L-Phe

Ces réactions sont utilisées sur les mêmes acides aminés (L-Ala et L-Phe) ainsi que sur la Boc-L-proline et Boc-D-proline dans le but de synthétiser des dipeptides et des tripeptides qui permettraient une cyclisation assistée par un repliement de la molécule linéaire. L'effet Thorpe-Ingold introduit plus haut sera donc exploité¹⁵ et pourrait favoriser la cyclisation monomérique. Un des peptides ainsi formés pourrait permettre la cyclisation sous forme de monomères plus facilement que les autres par le repliement provoqué par la proline (L ou D). De plus, les tripeptides pourraient permettre un ratio plus important de monomère cyclique que les dipeptides par l'allongement de la molécule linéaire.

Ainsi, les di- et tripeptides Boc-L-Pro-L-Phe-prop **78**, Boc-L-Ala-L-Pro-L-Phe-prop **80**, Boc-D-Pro-L-Phe-prop **82** et Boc-L-Ala-D-Pro-L-Phe-prop **84** ont été synthétisés et sont illustrés ci-dessous. Ils sont, comme pour les peptides propargylés précédents, utilisés dans la

section suivante pour les couplages avec l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique **61** suite à leur déprotection.

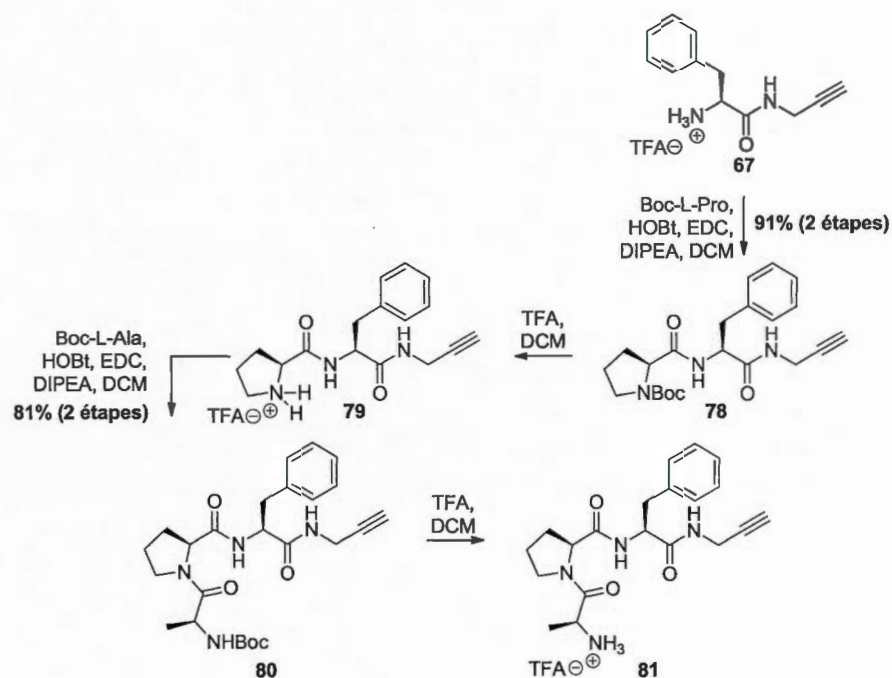


Schéma 4.11 Synthèse des peptides propargylés Boc-L-Pro-L-Phe-prop **78** et Boc-L-Ala-L-Pro-L-Phe-prop **80** et de leur version déprotégée **79** et **81**.

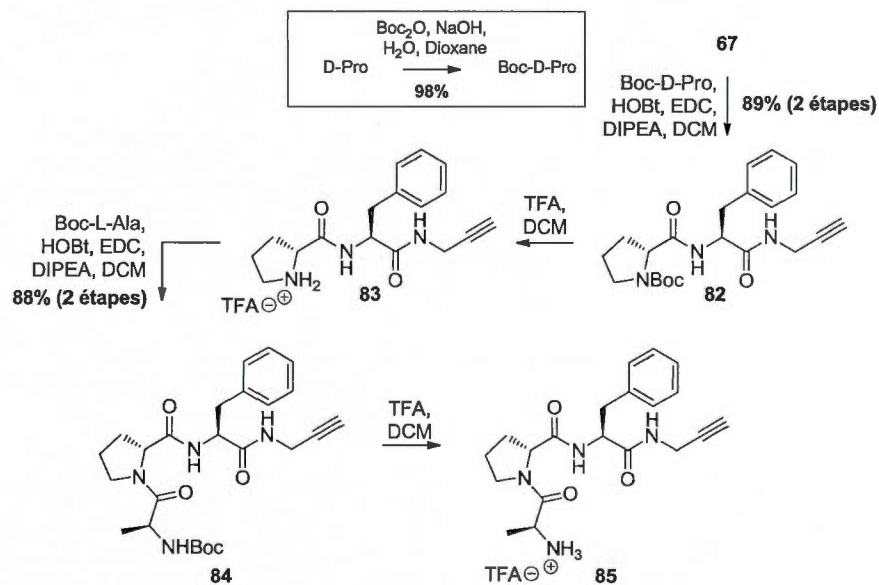


Schéma 4.12 Synthèse de la Boc-D-Pro, des peptides propargylés Boc-D-Pro-L-Phe-prop **82** et Boc-L-Ala-D-Pro-L-Phe-prop **84** et de leur version déprotégée **83** et **85**.

Tous les peptides propargylés sont analysés par IR et RMN. Des spectres semblables à celui du dipeptide Boc-L-Ala-L-Phe-prop, présentés ici, sont obtenus.

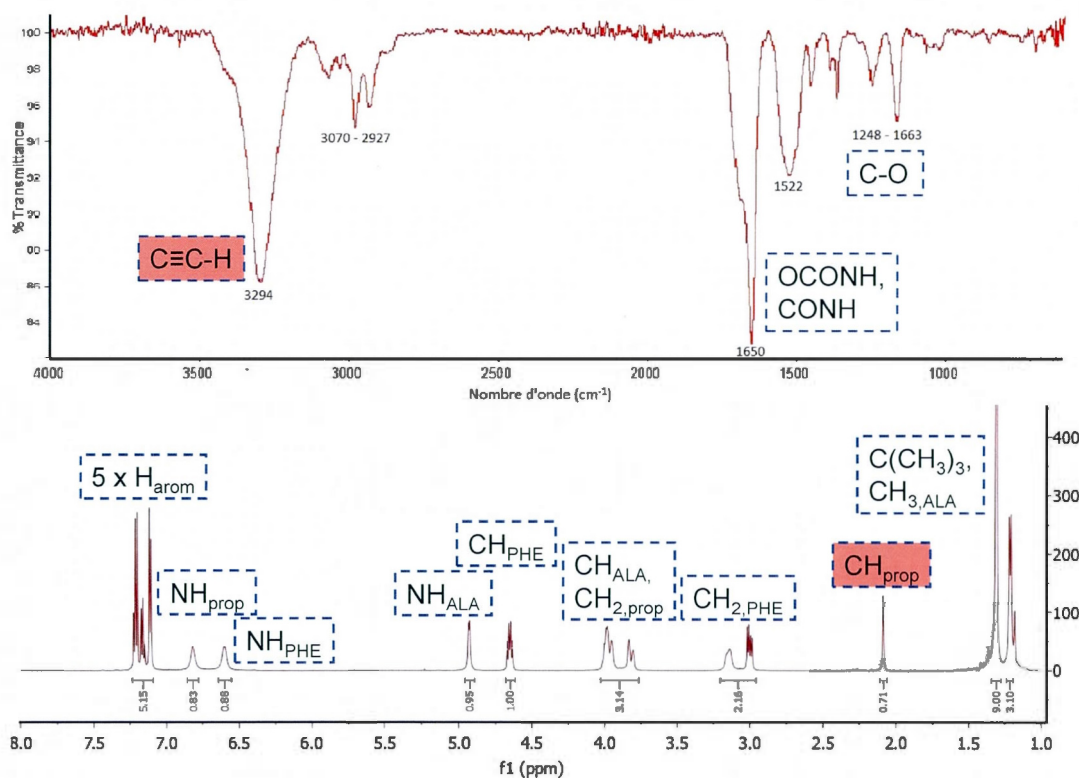


Figure 4.6 Spectre IR et RMN- ^1H du composé Boc-L-Ala-L-Phe-prop **68**.

Ces deux spectres permettent de confirmer la présence de l'hydrogène terminal de la triple liaison (3294 cm^{-1} et 2.09 ppm), en plus de confirmer la présence des autres groupements de la molécule, tel qu'indiqué.

Dans le cas de composés comprenant la proline dans leur structure, les spectres IR sont semblables au précédent et ne sont donc pas montrés ici (le Chapitre VII peut être consulté pour des détails). Par contre, certains des spectres RMN sont plutôt différents. En effet, en plus des signaux attendus sont observés des signaux supplémentaires. Voici le spectre du tripeptide Boc-L-Ala-L-Pro-L-Phe-prop **80**, effectué dans le chloroforme, à titre d'exemple (Figure 4.7).

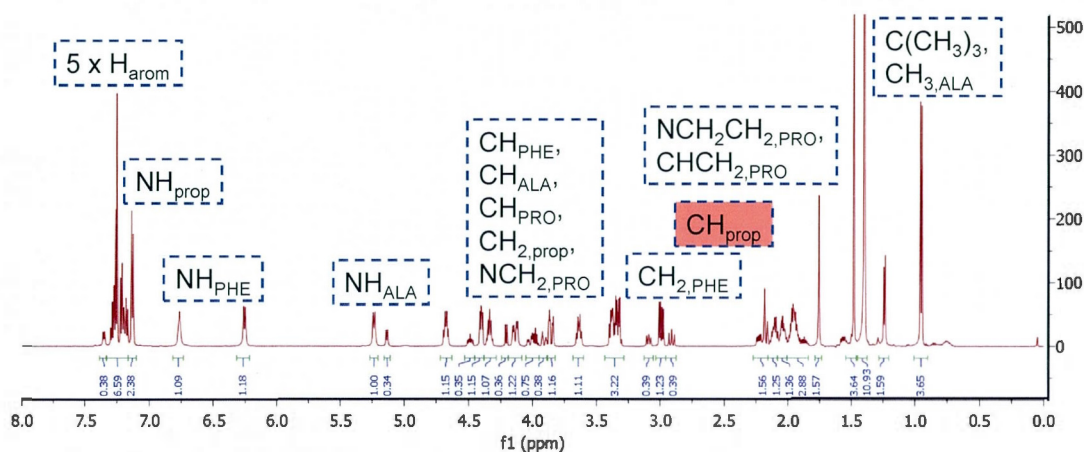


Figure 4.7 Spectre RMN- ^1H du composé Boc-L-Ala-L-Pro-L-Phe-prop **80**.

Un tel phénomène de dédoublement est fréquemment rencontré par les chercheurs dont les travaux sont axés sur les acides aminés. Au sein d'un peptide, certains acides aminés permettent une rotation autour du lien amide, créant des isomères nommés rotamères. Un rotamère peut être observé sur un spectre de résonance magnétique nucléaire lorsque l'énergie nécessaire à la rotation est assez faible pour permettre à celle-ci de se produire à la température de la pièce. La présence de rotamères provoque la présence de signaux supplémentaires, ce qui complique considérablement les spectres. Par contre, les intégrations représentant un même rotamère sont proportionnelles pour tous les hydrogènes de la molécule, de même que pour le deuxième rotamère.

Dans le cas présent, la L-proline est responsable de cette rotation. Elle peut d'ailleurs être observée sur la Figure 4.8 où une modélisation 3D et une représentation chimique de cette rotation autour du lien amide du résidu L-proline du tripeptide Boc-L-Ala-L-Pro-L-Phe-prop sont illustrées.

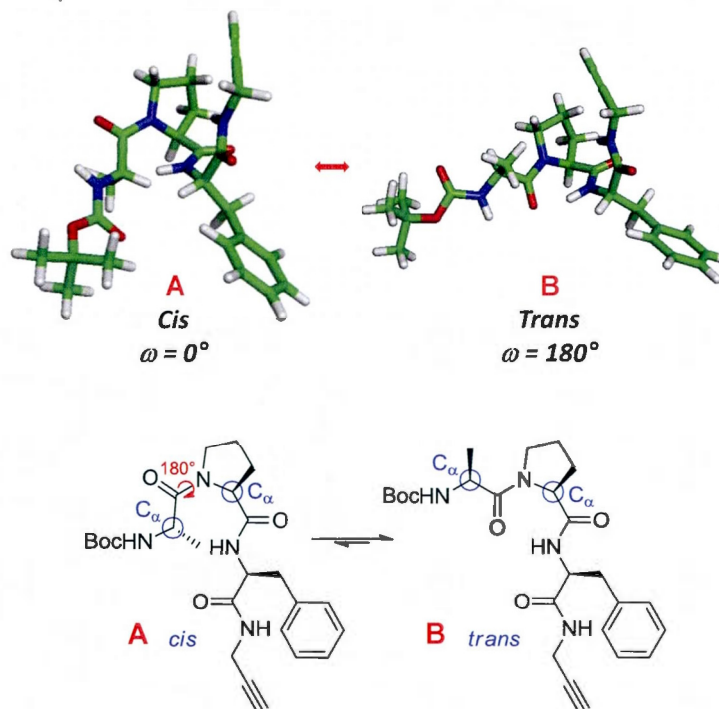


Figure 4.8 Structures *cis* et *trans* du composé Boc-L-Ala-L-Pro-L-Phe-prop (**80**) selon une modélisation 3D et une représentation chimique.

La rotation de 180° autour du lien amide de la L-proline permet de diminuer l'encombrement en passant du rotamère *cis* A au rotamère *trans* B. Ce dernier serait donc favorisé (d'où le sens de la double flèche). De plus, Kikelj et al. mentionnent le fait que l'équilibre entre la forme *cis* et la forme *trans* de la L-Pro implique généralement un ΔG inférieur à -2 kcal/mol.⁵⁵ Les analyses qui suivent permettent de prouver ceci.

La température d'analyse RMN a été augmentée dans le but de faire migrer les deux doublons de chacun des signaux en un seul et d'ainsi faciliter l'analyse. En effet, augmenter la température permet à la rotation de se produire à une vitesse empêchant la visualisation des deux rotamères distinctivement. Par contre, la température d'ébullition du chloroforme a empêché une coalescence suffisante (une température maximale de 75°C a été atteinte) donc le solvant a dû être changé. Le DMSO- d_6 a été choisi puisqu'il possède de bonnes propriétés

⁵⁵ Kikelj, D. et al., *J. Org. Chem.*, **2001**, 66, 7044-7050.

de solubilisation et une température d'ébullition élevée. Les spectres suivants ont été obtenus à la température pièce, où les signaux sont aussi dédoublés (deux rotamères), et à 125°C, où chacun des hydrogènes est représenté par un seul signal (un seul composé résultant de la rotation rapide).

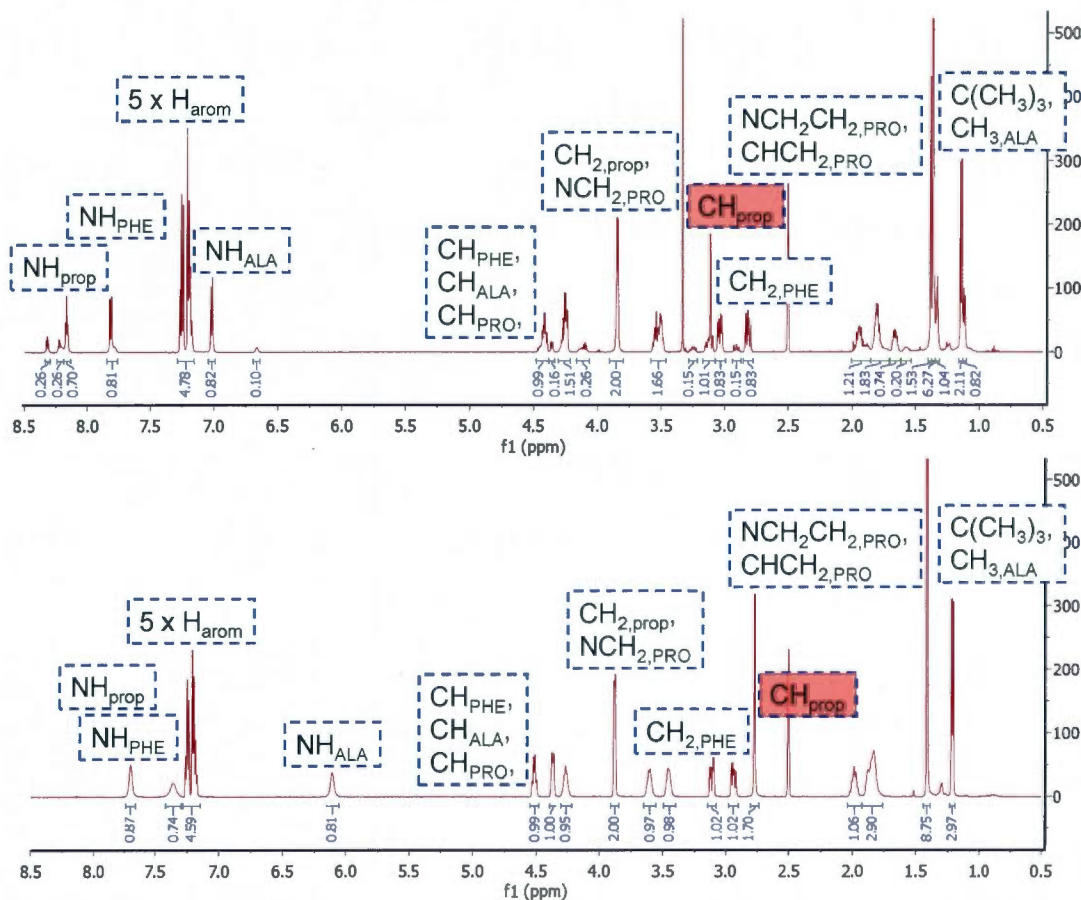


Figure 4.9 Spectres RMN- ^1H à TP (en haut) et à 125°C (en bas) du composé Boc-L-Ala-L-Pro-L-Phe-prop **80**.

L'analyse du spectre RMN- ^1H est beaucoup plus simple une fois ces dédoubléments évités : le spectre paraît ainsi bien plus propre.

L'obtention de onze spectres de la température pièce à 125°C, pris à intervalles allant jusqu'à 15°C, permet de déterminer la température de coalescence et l'énergie de rotation des deux rotamères observés à TP.

Les signaux choisis pour observer la coalescence sont ceux correspondant au méthyle du résidu alanine puisqu'ils sont isolés des autres et possèdent des multiplicités définies. Le schéma suivant permet de visualiser l'évolution de la coalescence de ces deux doublets dédoublés lors de l'augmentation de la température (ils deviennent en fait un simple doublet).

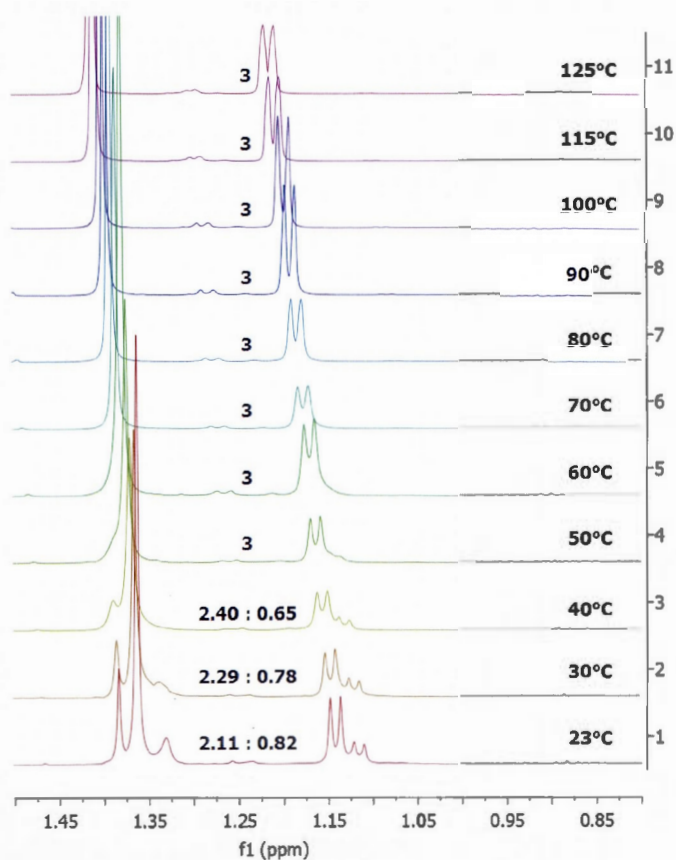


Figure 4.10 Agrandissement des spectres RMN-¹H du composé Boc-L-Ala-L-Pro-L-Phe-prop **80** de TP à 125°C.

L'analyse de l'évolution des doublets permet d'estimer la température de coalescence à 70°C. En effet, c'est la température la plus basse à laquelle le doublet n'est pas chevauché par le même doublet de l'autre rotamère mais paraît plutôt comme étant seul et symétrique. L'ensemble du spectre à 70°C permet d'ailleurs de confirmer ceci. Par contre, la définition des signaux de chaque hydrogène s'améliore jusqu'à 125°C.

L'intégration de 3, attendue pour un méthyle terminal, est observée dès le début de la coalescence à environ 50°C (première température à laquelle les deux doublets ne sont plus dissociés aussi clairement). Lorsque la température est plus basse, des intégrations individuelles, présentées sur le schéma précédent, ont pu être calculées représentent des ratios *trans/cis*.

À TP, le ratio de 2.11 : 0.82 a été obtenu et a permis de calculer un ΔG , l'enthalpie libre, à l'aide de l'équation suivante :

$$\Delta G = -RT \ln(K_{\text{eq}}) \quad (4.1)$$

Où R est la constante universelle des gaz parfaits ($8.3145 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) ;

T est la température en Kelvin ($23^\circ \text{C} + 273 = 296 \text{ K}$ ($0^\circ \text{C} = 273$)) et

K_{eq} est la constante d'équilibre (correspondant au ratio 2.11/0.82)

Un ΔG d'une valeur de -2.33 kJ/mol ou -0.56 kcal/mol (puisque $1 \text{ cal} = 4.1868 \text{ J}$) a été obtenue. Cette valeur négative permet de confirmer l'équilibre favorable pour la molécule *trans* par rapport à la *cis*. Elle est d'ailleurs inférieure à -2 kcal/mol, ce qui suit les résultats obtenus de Kikelj et al.⁵⁵ Aussi, un si faible ΔG explique la facilité de rotation dont fait preuve la molécule à TP et confirme que les dédoublements observés en RMN proviennent des deux rotamères (*cis* et *trans*). Alan E. Tonelli a d'ailleurs mentionné en 1973⁵⁶ que la barrière énergétique de la rotation de la L-Pro retrouvée au sein d'un peptide était inférieure à 10 kcal/mol, ce qui confirme la facilité de cette rotation à basse température.

⁵⁶ Tonelli, A.E., *J. Am. Chem. Soc.*, 1973, 95, 5946-5948.

CHAPITRE V

Couplages des peptides propargylés et de l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique **61**

Chacun des peptides mentionnés plus haut est couplé à l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique **61** dans les conditions impliquant HOBt et EDC. Il est analysé par IR et RMN dans le but de confirmer la présence de la triple liaison et de l'azoture avant de procéder à la cyclisation des composés par la chimie *click* (Chapitre VI). La spectrométrie de masse est aussi utilisée dans le but de certifier l'obtention des composés. Les valeurs résultantes peuvent être retrouvées au Chapitre VII.

5.1 Séquence mono-peptide L-Phe et dipeptides L/D-Ala-L/D-Phe

Le sucre **61** synthétisé au début du chapitre précédent est ici couplé au mono-peptide L-Phe-prop **67** dans les mêmes conditions de réactions qu'utilisées précédemment tel que mentionné.

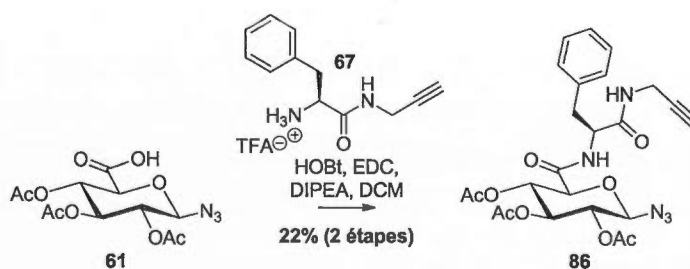


Schéma 5.1 Couplage peptidique entre l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique **61** et L-Phe-prop **67**.

Un rendement de 22% a été obtenu sur deux étapes (déprotection et couplage). Ce dernier est considéré comme étant non-optimisé puisque la réaction a été faite une seule fois. Le composé propre obtenu a été analysé par IR et RMN et les spectres correspondants sont illustrés plus bas. Le groupement azoture peut être confirmé par la bande à 2120 cm^{-1} alors que l'hydrogène terminal de la triple liaison est observé à 3286 cm^{-1} et à 2.12 ppm .

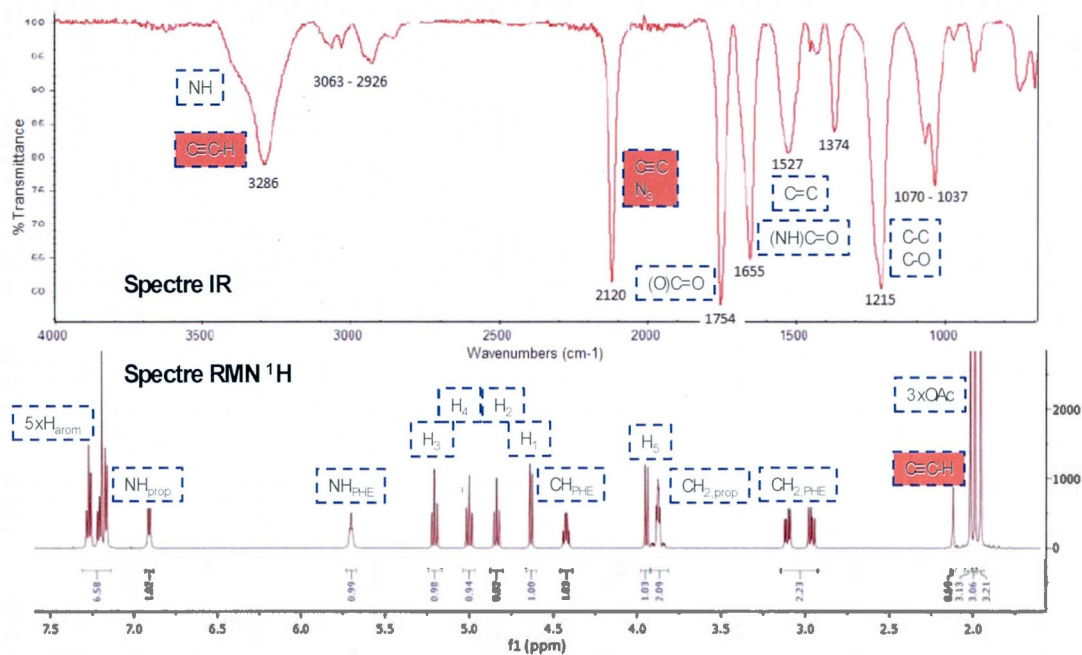


Figure 5.1 Spectres IR et RMN- ^1H de **86**.

La même réaction est effectuée sur le sucre **61** avec le dipeptide L-Ala-L-Phe-prop **69**. La solubilité de ce composé et la présence d'une liaison amide supplémentaire ont accentué la difficulté de la purification. Un rendement non-optimisé de 39% a malgré tout été obtenu pour la déprotection et le couplage.

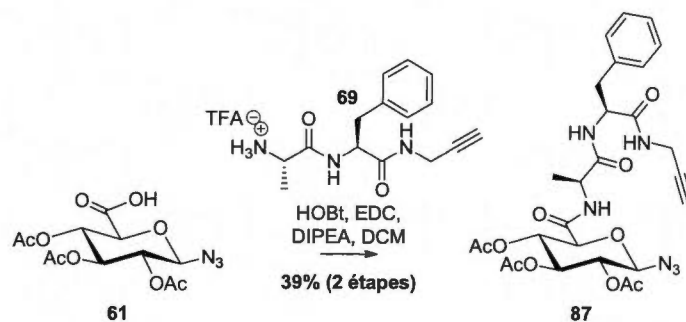


Schéma 5.2 Couplage peptidique entre l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique **61** et L-Ala-L-Phe-prop **69**.

Le spectre RMN a dû être effectué dans un solvant différent du précédent, soit le diméthylsulfoxyde (DMSO- d_6), dû à cette perte de solubilité. Pour cette raison, le signal correspondant à l'hydrogène terminal de la triple liaison est maintenant représenté par un triplet à 3.11 ppm (Figure 5.2). Le spectre IR est par contre plutôt semblable au précédent puisque les groupements fonctionnels du composé le sont aussi.

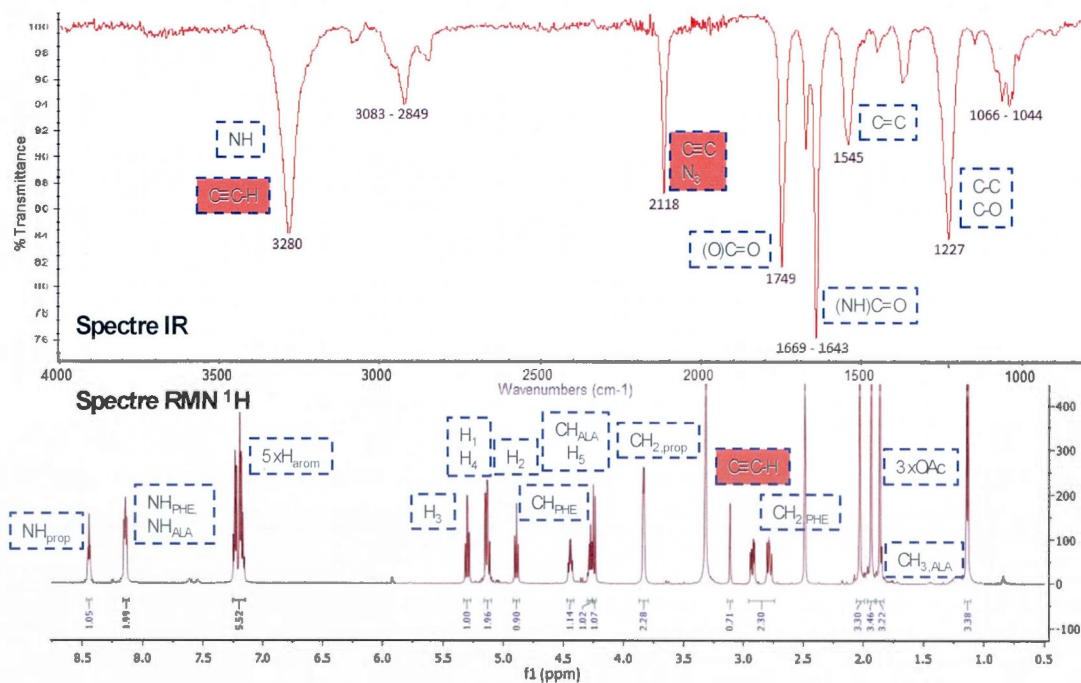


Figure 5.2

Spectres IR et RMN-¹H de **87**.

Le tripeptide L-Ala-L-Ala-L-Phe **71** est ici couplé à l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique **61** dans les mêmes conditions de couplages (EDC, HOBt). Un rendement de 58% est obtenu sur deux étapes (déprotection du tripeptide et couplage).

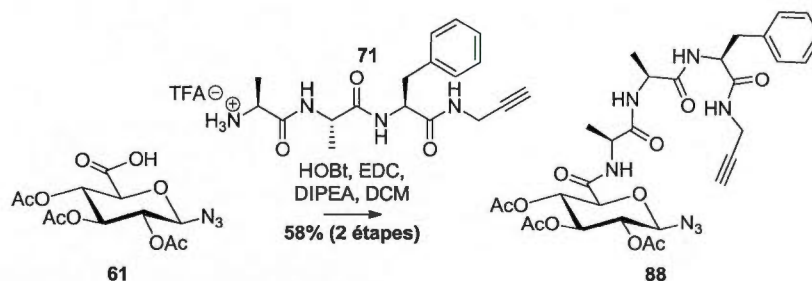


Schéma 5.3 Couplage peptidique entre l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique **61** et L-Ala-L-Ala-L-Phe-prop **71**.

La structure du présent composé possède seulement un L-Ala supplémentaire par rapport à la structure précédente. Pour cette raison, les spectres IR et RMN- ^1H sont très similaires et ne sont pas montrés ici.

Les dipeptides D-Ala-L-Phe-prop **73** et L-Ala-D-Phe-prop **77** ont été couplés au même sucre dans ces conditions et des spectres semblables ont été obtenus. Ces derniers ne seront pas montrés pour cette raison. Leur structure est par contre introduite dans le but d'aider à la visualisation des stéréochimies choisies pour diversifier les structures des molécules pré-cycliques.

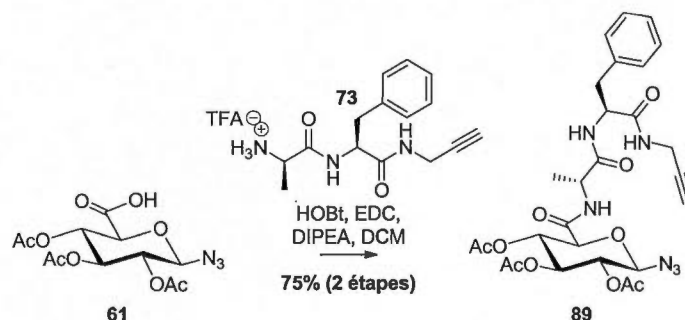


Schéma 5.4 Couplage peptidique entre l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy-β-D-glucopyranuronique **61** et D-Ala-L-Phe-prop **73**.

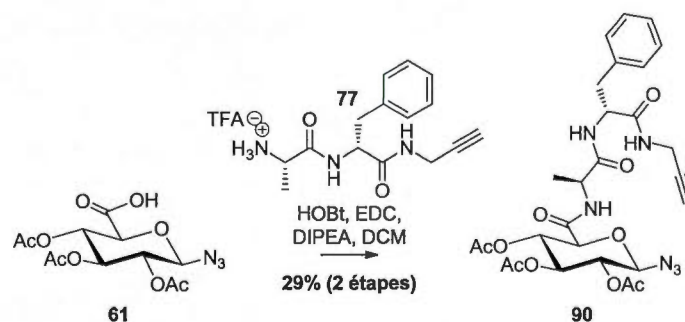


Schéma 5.5 Couplage peptidique entre l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy-β-D-glucopyranuronique **61** et L-Ala-D-Phe-prop **77**.

Une des stéréochimies observées ci-dessus (L-L, D-L ou L-D) pourrait permettre la cyclisation de façon monomérique plus facilement que les autres. Les résultats des cyclisations par la chimie *click* présentés plus loin viendront confirmer ou infirmer cette hypothèse.

5.2 Séquence dipeptides et tripeptides (L-Ala)-L/D-Pro-L-Phe

Avant de passer à ces cyclisations, des molécules pré-cycliques composées de la proline ont été préparés dans les mêmes conditions de couplages peptidiques. Les dipeptides

L-Pro-L-Phe-prop **79** et D-Pro-L-Phe-prop **83** ainsi que les tripeptides L-Ala-L-Pro-L-Phe-prop **81** et L-Ala-D-Pro-L-Phe-prop **85**, présentés plus haut, sont ainsi couplés tel que présenté dans les Schémas 5.6 à 5.9. Les rendements sont calculés pour la déprotection et le couplage (2 étapes).

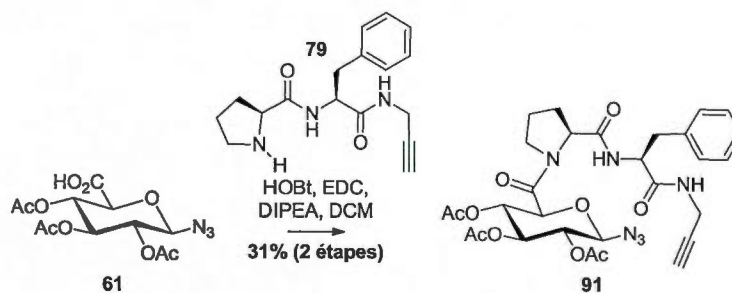


Schéma 5.6 Couplage peptidique entre l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy-β-D-glucopyranuronique **61** et L-Pro-L-Phe-prop **79**.

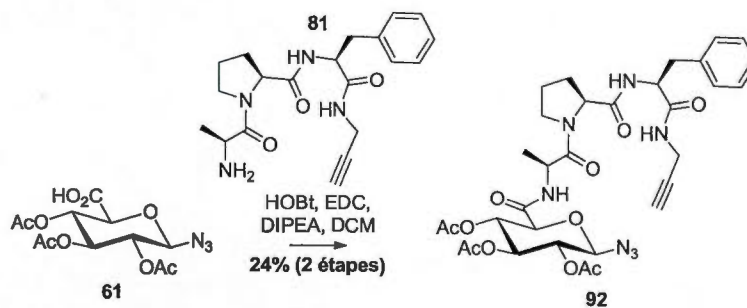


Schéma 5.7 Couplage peptidique entre l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy-β-D-glucopyranuronique **61** et L-Ala-L-Pro-L-Phe-prop **81**.

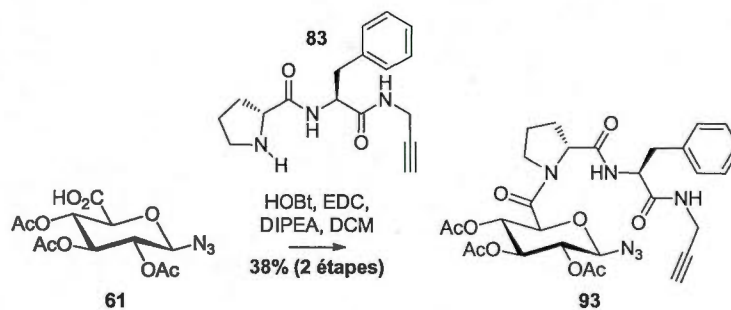


Schéma 5.8 Couplage peptidique entre l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique **61** et D-Pro-L-Phe-prop **83**.

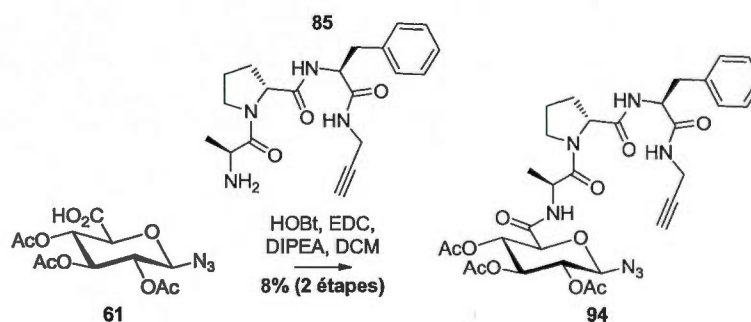


Schéma 5.9 Couplage peptidique entre l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique **61** et L-Ala-D-Pro-L-Phe-prop **85**.

Les spectres correspondant à chacun de ces composés étant semblables, seulement le RMN- ^1H du composé **92** est montré ici. La présence des rotamères est observée ici, phénomène semblable à celui illustré plus haut pour le tripeptide propargylé seul. Les diverses assignations peuvent être retrouvées sur la Figure 5.3.

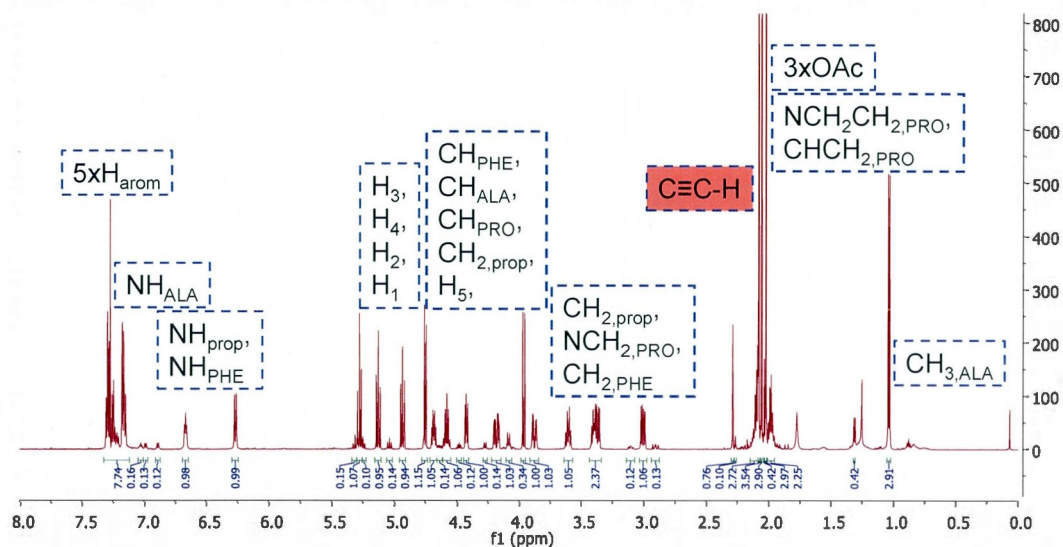


Figure 5.3 Spectres IR et RMN- ^1H de **92**.

La plus importante reste celle représentant l'hydrogène de la triple liaison (2.29 ppm). Considérant les intégrations relatives et les conclusions faites plus haut, le composé a été jugé propre et la cyclisation a été effectuée. D'ailleurs, chacun des composés synthétisés dans le présent chapitre a été cyclisé, et ce, par la chimie *click*. C'est le sujet du Chapitre VI.

CHAPITRE VI

Cyclisations par la *click chemistry*

Ce chapitre est réservé aux cyclisations par la chimie *click* ainsi qu'aux analyses CL-SM effectuées. Certains schémas de ces réactions sont donc suivis du spectre correspondant dans le but de visualiser les produits de ces cyclisations. Tous ces chromatogrammes (incluant ceux qui ne sont pas montrés ici) peuvent être retrouvés au Chapitre VII (Partie expérimentale). Lorsque la réaction a été lancée sur une petite masse dans le but de faire seulement une analyse par CL-SM, aucun rendement n'a été calculé.

6.1 Cyclisations et analyses CL-SM

6.1.1 Séquence monopeptide L-Phe et dipeptides L/D-Ala-L/D-Phe

Les premières conditions utilisées impliquaient le sulfate de cuivre pentahydraté ainsi que l'ascorbate de sodium dans un solvant composé de méthanol et d'eau (Schéma 6.1). Puisque la réaction ne procède pas à TP ou à 40°C, le support réactionnel a été changé pour le micro-ondes. Trente minutes, une concentration de 0.1M ainsi qu'une température de 70°C ont permis à la réaction de se réaliser, mais elle n'a pas été traitée ou suivie (pour plus de détails concernant les conditions de réaction, se référer au Chapitre VII). Une masse de départ très petite du composé **86** avait été utilisée dans un objectif précis.

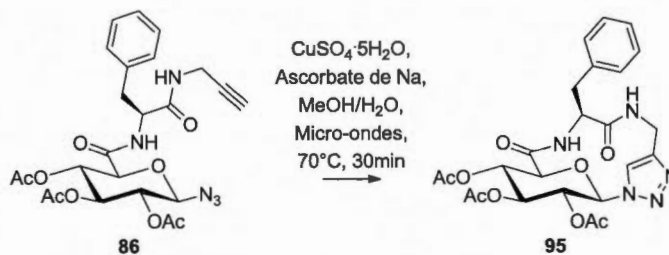


Schéma 6.1 Cyclisation *click* de **86**.

Seulement un échantillon du milieu réactionnel a été envoyé à la plateforme de masse dans le but d'effectuer une analyse CL-SM. La spectrométrie de masse seule ne pouvait pas permettre de déterminer si la réaction avait bien eu lieu puisque le réactif et le produit possèdent la même masse exacte : aucun atome n'a été retiré ou ajouté à la structure (seuls des déplacements électroniques et de l'aide catalytique permettent la cyclisation). La spectrométrie de masse couplée à la chromatographie liquide a ainsi été choisie dans le but de séparer les composés résultants dans le temps avant leur analyse massique.

Le chromatogramme suivant indique les produits observés après 30 minutes de la réaction précédente. Chacun des signaux du chromatogramme représente une certaine masse : le plus petit produit passe plus facilement au travers de la colonne et donc en ressort plus rapidement, ce qui est défini par un temps de rétention plus court.

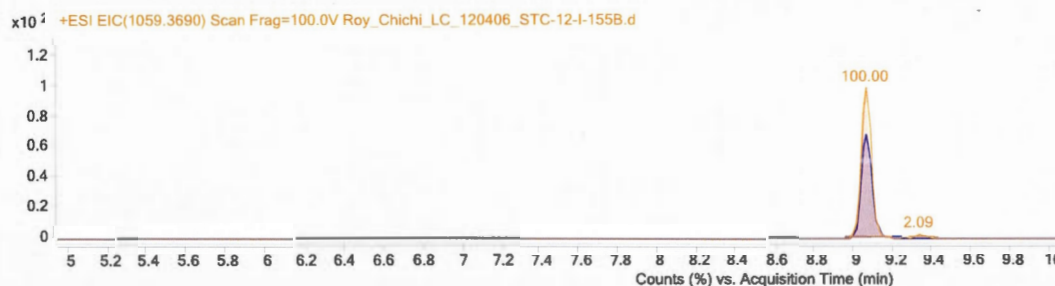


Figure 6.1 Chromatogramme CL-SM de la cyclisation de **86**.

En gardant ceci en tête et en analysant le spectre de masse de chacun des signaux, il pourrait être possible de conclure en la présence du monomère. En effet, si l'analyse n'est pas effectuée avec minutie, le premier pic, celui à 9.05 minutes représenté en vert ci-dessous,

semble correspondre au monomère de masse exacte de 529.1809 g/mol. Par contre, l'analyse des spectres de masse ci-dessous mène à une conclusion plutôt différente.

L'analyse des spectres de masse correspondants oblige cependant à conclure autrement. L'ionisation du composé cyclique a généré des molécules chargées dont le ratio masse sur charge (m/z) a été calculé. Les valeurs obtenues peuvent être observées sur les spectres suivants (Figure 6.2). Le premier représente le signal à 9.05 minutes alors que le second représente le signal à 9.35 minutes.

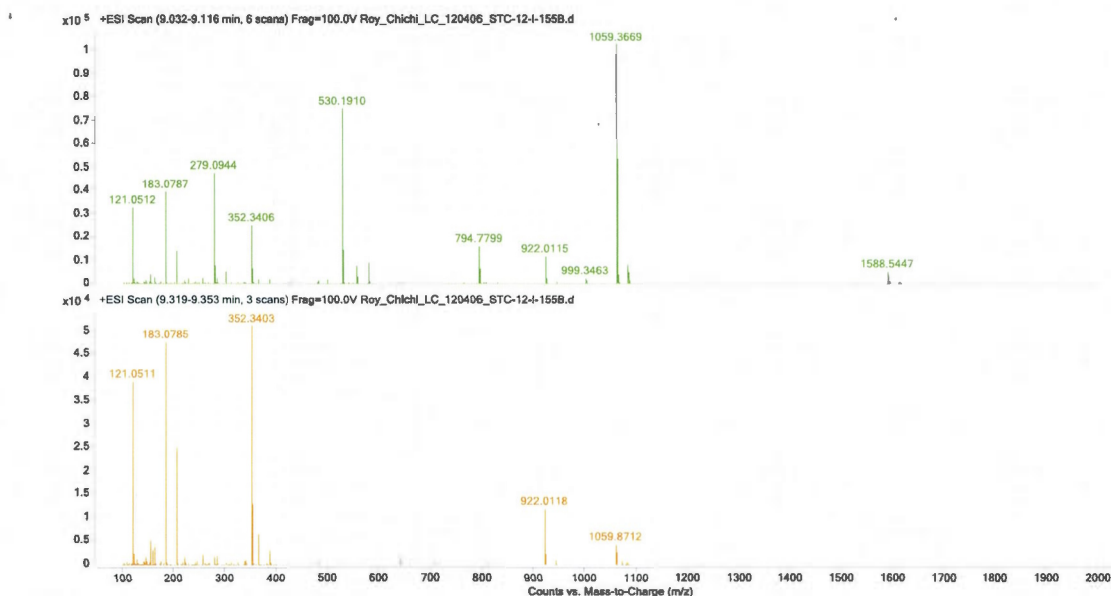


Figure 6.2 Spectres de masse des deux signaux du chromatogramme de la Figure 6.1 (le premier à 9.05 minutes et le second à 9.35 minutes).

Le premier signal est donc représenté par deux pics majoritaires, à 530.1910 et à 1059.3669. Ce dernier est caractérisé par une charge de +1 ($m/1$) ce qui signifie que la masse de la molécule correspondante a simplement été additionnée de la masse d'un hydrogène (représenté par $[M+H]^+$ ci-dessous). Le rapport m/z de 1059.3669 devient ainsi une masse de 1059.3669g qui, suite à la soustraction de 1.0073 g permet d'obtenir une masse de 1058.3596 g. Celle-ci concorde à quelques décimales près avec la masse du dimère de la molécule attendue (1058.3618 g/mol pour le dimère et 529.1809 g/mol pour le monomère **95**).

Par ailleurs, le pic de m/z 530.1910 est caractérisé par une charge de +2 ($m/2$), ce qui signifie que la molécule a été coupée en deux parts égales lors de l'ionisation puis a été additionnée d'un hydrogène (représenté par $[M+H]^{2+}$ ci-dessous). Le chemin inverse, impliquant la soustraction de la masse d'un hydrogène puis la multiplication par 2 du résultat obtenu permet une masse de 1058.2360 g, soit environ la masse du dimère (1058.3618 g/mol). Ce «monomère» (m/z de 530.1910) aurait donc été produit lors de l'ionisation du composé mais provient du dimère puisqu'il a été observé au même temps de rétention.

Le même traitement peut être appliqué au signal à 9.35 minutes. Le rapport m/z retrouvé à 1059.3656 (1059.8712 n'est pas le premier pic de la série comme la Figure 6.3 semble l'indiquer) est chargée +2. La soustraction de la masse d'un hydrogène et la multiplication de la valeur obtenue par 2 permet une masse de 2116.7166 g. La masse du tétramère étant de 2116.7235 g/mol, il peut être conclut que le second signal du CL-SM le représente. Voici une schématisation de tout ceci.

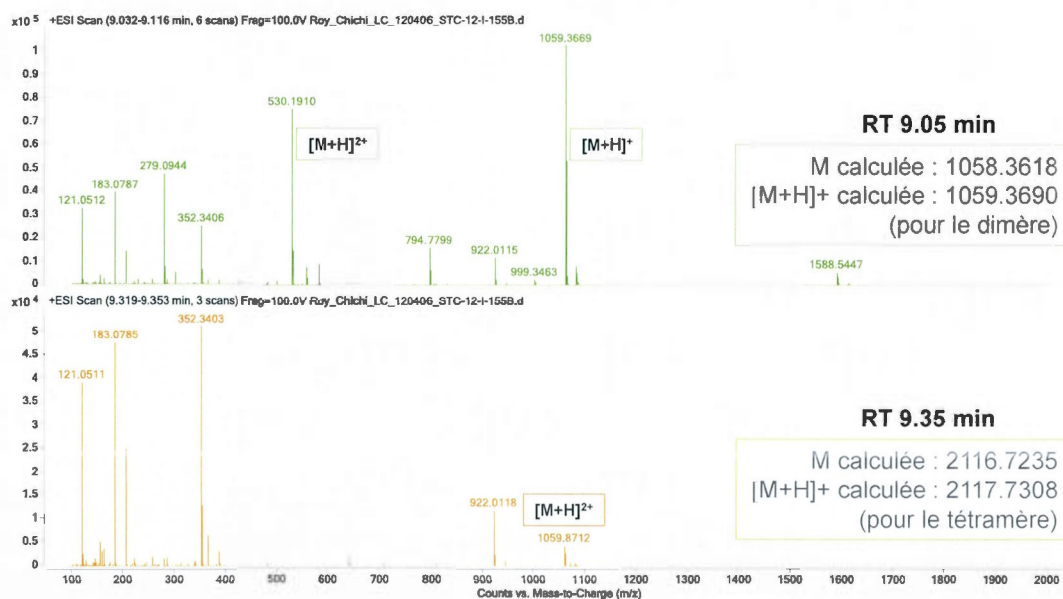


Figure 6.3 Spectres de masse annotés des deux signaux du chromatogramme de la Figure 6.1.

En bref, aucun monomère cyclique **95** n'aurait été synthétisé durant cette réaction, plutôt un dimère (9.05 minutes) et un tétramère (9.35 minutes). Le chromatogramme précédent est de nouveau inséré ici selon ces résultats et tel qu'il peut être observé au Chapitre VII.

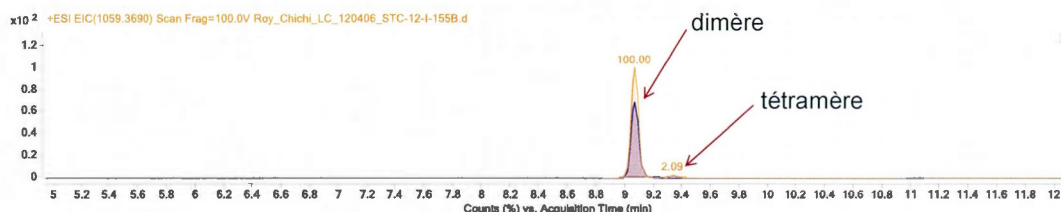


Figure 6.4 Chromatogramme CL-SM annoté de la cyclisation de **86**.

Les nombres 100 et 2.09 indiqués au-dessus des signaux sont en fait les aires relatives de ces derniers. Ces aires sont utilisées plus bas pour calculer le ratio de dimère par rapport au tétramère. La section suivante est entièrement dédiée aux ratios obtenus suite à la présente réaction et aux suivantes.

Il est supposé que ce dimère et ce tétramère sont cycliques vu la concentration utilisée, 0.1M (condition plutôt concentrée), qui permettrait à la réaction d'être complète (aucun alcyne ou azoture ne serait resté intouché). Cette hypothèse est plausible puisque des résultats obtenus avec le composé suivant (**97**) à des concentrations plus diluées, retrouvés plus loin, indiquent la présence du monomère et du dimère linéaires à des temps de rétention plus petit que le monomère et le dimère présumés être cycliques (Entrées **97b**, **97c** du Tableau 6.1).

La structure du dimère cyclique **96** obtenu ici peut être visualisée et comparée à celle du monomère **95** sur la Figure 6.5.

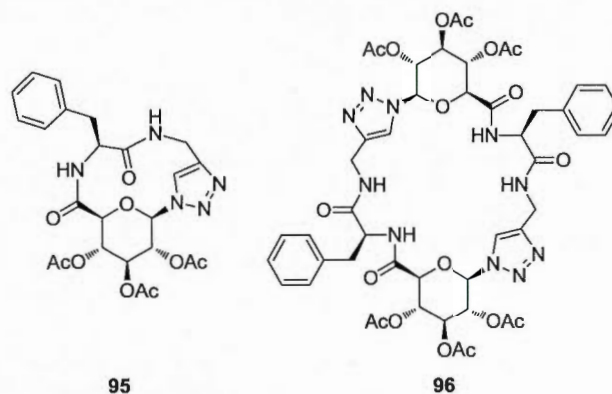


Figure 6.5 Structure du monomère et du dimère cycliques **95** et **96**.

La cyclisation suivante a ensuite été effectuée. L'utilisation d'un dipeptide pourrait permettre l'obtention de monomère cyclique, au contraire du mono-peptide ci-dessus, et l'utilisation de la même concentration, 0.1M, permettra de comparer ces résultats obtenus.

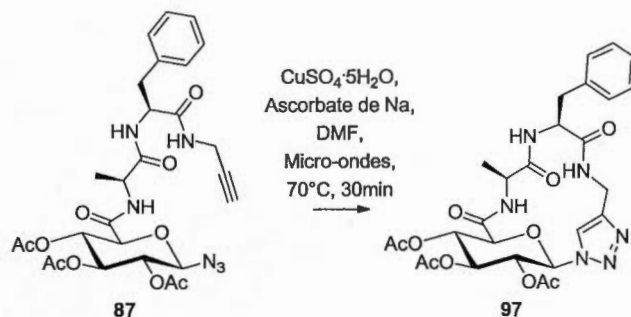


Schéma 6.2 Cyclisation *click* de **87**.

Puisqu'une masse plus importante a été utilisée, le traitement de la réaction a pu être effectué. Au départ, aucune molécule intéressante ne semblait être présente dans les phases aqueuse et organique. Néanmoins, après un certain temps, un précipité s'est formé dans chacune des phases. Chacun a été isolé, séché et analysé par RMN avant même les tests CL-SM. Voici les spectres RMN-¹H des deux composés et le RMN-TOCSY d'un seul (l'autre est très semblable).

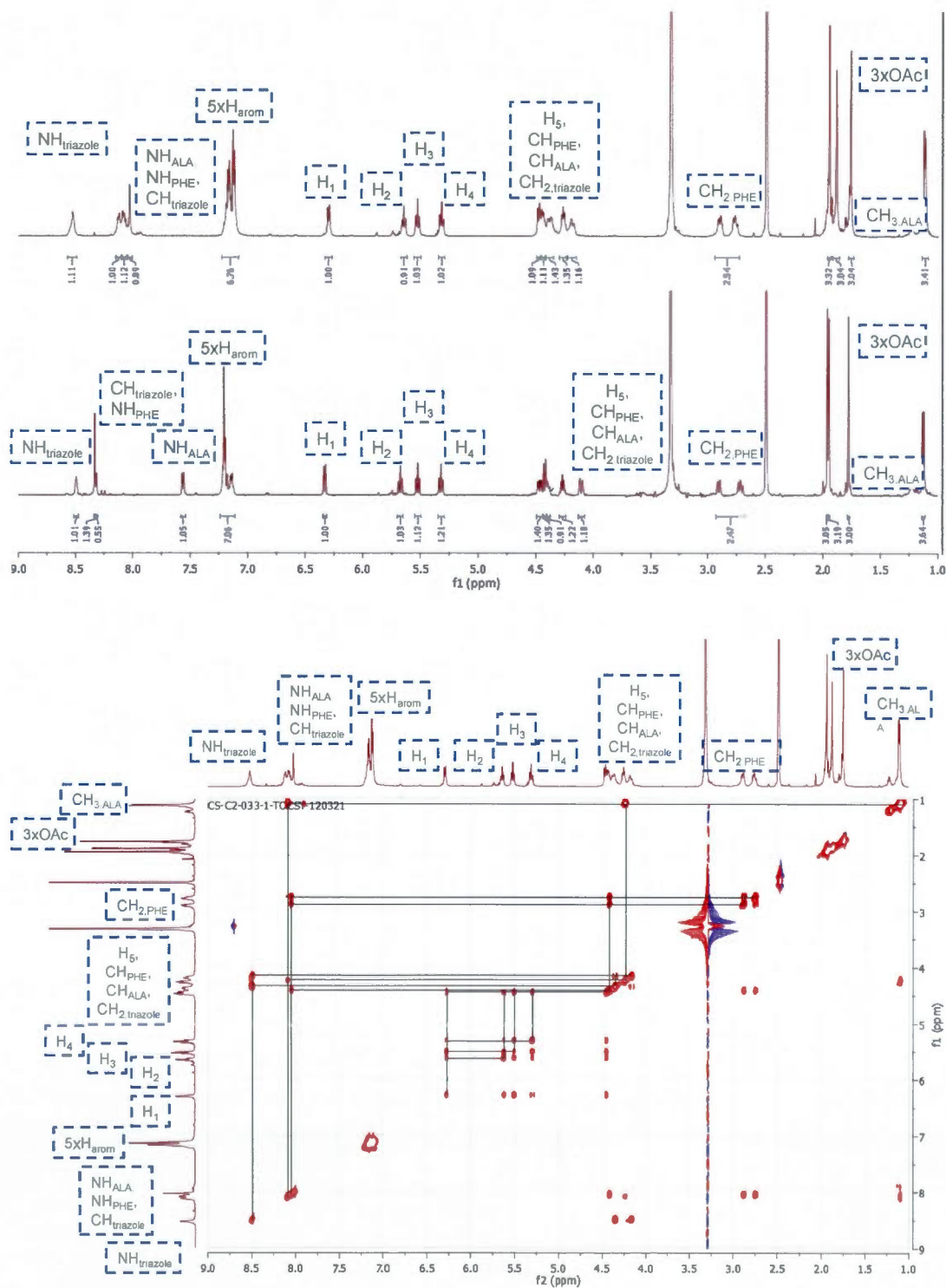


Figure 6.6 Spectres RMN- ^1H et -TOCSY du composé isolé suite à la *click* sur 87.

Chacun de ces spectres semble indiquer la présence du composé monomérique. Effectivement, les environnements chimiques observés sur le spectre proton et la succession de voisins confirmée par le TOCSY peuvent supporter ceci. De plus, les spectres RMN- ^1H semblent indiquer deux produits différents. Toutefois, cela peut aussi être signe de la présence des oligomères. Ces derniers provoqueraient les mêmes environnements et voisins puisque la dimérisation (ou oligomérisation) ne modifie pas la structure de la molécule au sens propre, mais la multiplie plutôt. Ainsi, l'enchaînement des atomes peut être significatif des deux situations puisque les atomes d'un oligomère, le dimère **98** représenté ci-dessous par exemple, possèdent toujours les mêmes atomes voisins qu'au sein du monomère **97**.

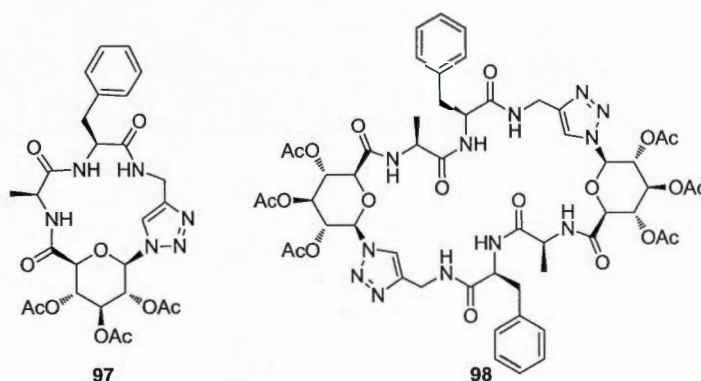


Figure 6.7 Structure du monomère et du dimère cycliques **97** et **98**.

Le signal de l'hydrogène de l'alcyne terminal de **87** n'est pas visible sur les spectres RMN- ^1H . Cela signifie que le produit de départ a été consommé et que les composés observés sont issus d'une cyclisation et non pas d'une *click* ayant simplement procédé entre deux composés linéaires. La théorie mentionnée plus tôt, pour le composé cyclique précédent, semble donc être confirmée ici : les signaux observés sur le CL-SM représentent des molécules cycliques. De plus, le déplacement du H_1 sur la Figure 6.6 (**97**) est de 6.33 ppm, alors qu'il était de 5.14 ppm sur la Figure 5.2 (**87**). Cela signifie que la transformation du $\text{C}_1\text{-N}_3$ (substrat) en C_1 -triazole (produit) s'est effectivement produite. Ce dernier permet un déblindage plus important du proton H_1 tel que l'oblige tout cycle aromatique comme le benzène. Le CH_2 de l'extrémité propargylée du **87** se retrouve d'ailleurs déblindé aussi lors de la cyclisation : il passe d'environ 3.83 ppm à environ 4.45 et 4.10 ppm pour le mélange

97. D'un autre côté, le changement de 8.88 Hz à 9.18 Hz pour la constante de couplage de H_1 pourrait être la conséquence d'une certaine distorsion imposée par la cyclisation et subie par le sucre.

Puisque les spectres de la Figure 6.6 ne sont pas suffisants pour conclure en la structure des deux produits obtenus, le spectre CL-SM de chacun a été étudié (Figure 6.8).

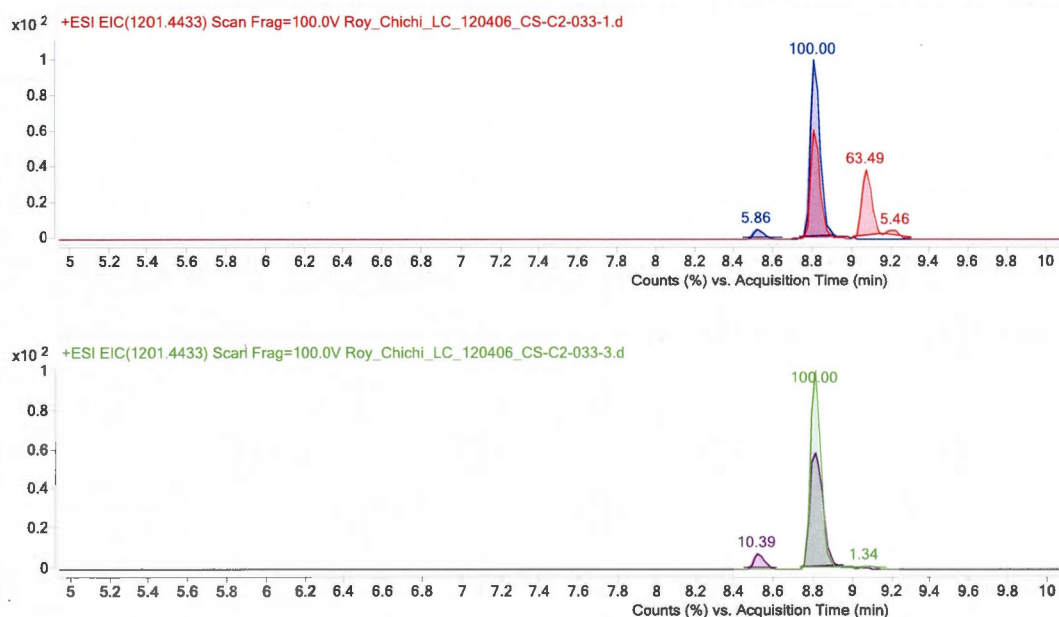


Figure 6.8 Chromatogramme CL-SM de la cyclisation de **87**.

Après l'analyse du chromatogramme CL-SM du composé monopeptidique (Figures 6.1 et 6.4), il peut être rapidement conclu que les deux ici indiquent aussi des signes d'oligomérisation. Pour s'en assurer, les spectres de masse peuvent être analysés de la même façon que précédemment.

Le spectre de masse du signal à 8.55 minutes du deuxième chromatogramme est caractérisé par une charge de +1 à un rapport m/z de 601.2273 ($[M+H]^+$). Cela qui signifie que la soustraction de la masse d'un hydrogène à celle-ci permet d'obtenir une masse de 600.2200 g et confirme en la présence du monomère cyclique **97** (600.2180 g/mol).

Les deux autres pics du même chromatogramme ont été analysés de cette façon et les résultats sont illustrés sur la Figure 6.9.

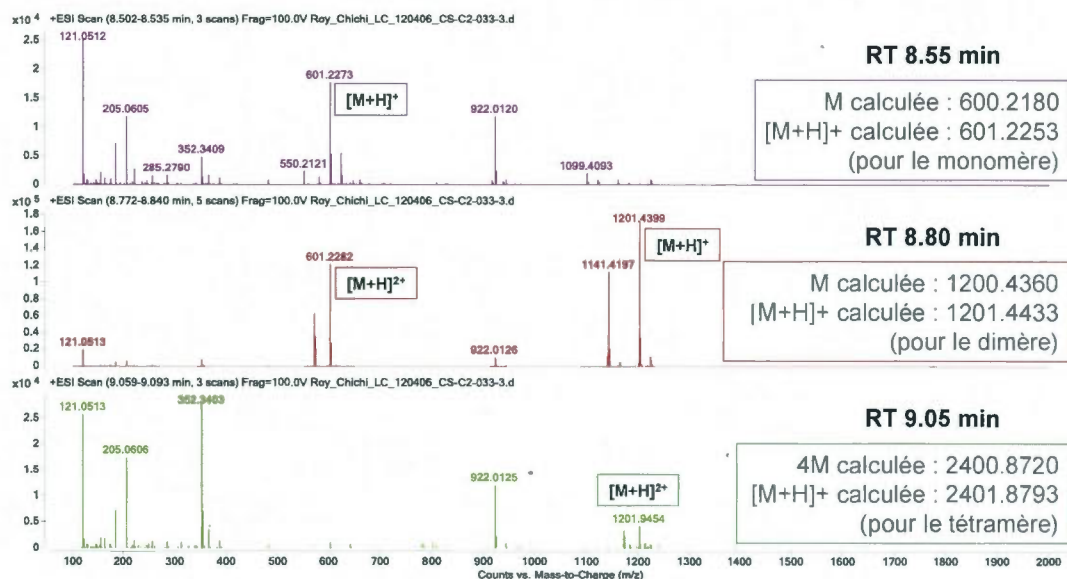


Figure 6.9 Spectres de masse annotés correspondants aux chromatogrammes de la Figure 6.8.

L'assignation correspondante des signaux du deuxième chromatogramme peuvent être visualisées sur la Figure 6.10. Celles du premier peuvent l'être aussi, malgré que l'analyse détaillée (qui est très semblable à celle du deuxième chromatogramme) ne soit pas montrée ici.

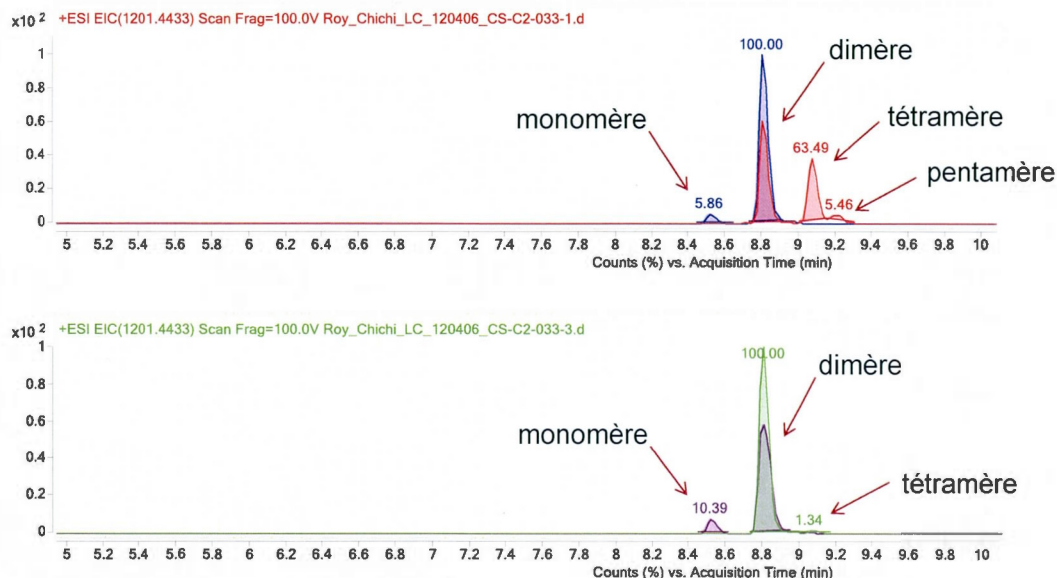


Figure 6.10 Chromatogramme CL-SM annoté de la cyclisation de **87**.

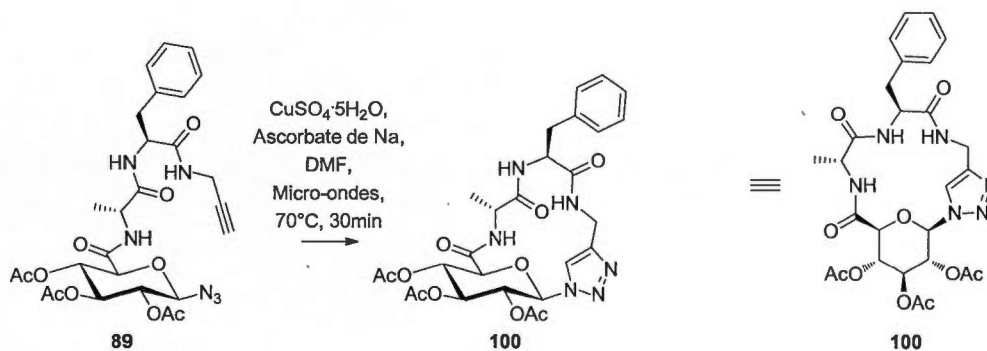
L'oligomérisation est confirmée dans les deux cas. Les deux produits isolés par précipitation lors du lavage ne semblent donc pas s'être purifiés lors de la séparation de phases. La faible solubilité du réactif de la cyclisation aurait probablement été conservée en cours de réaction et aurait provoqué l'agglomération des oligomères dans les deux phases.

La présence du monomère **97** a été prouvée. Néanmoins, il peut être observé que l'aire du pic représentant ce produit est très petite (5.86 et 10.39 vs 100 pour **98**). Les calculs de ratio correspondant à ceci se trouvent dans le tableau retrouvé plus bas. Des concentrations de 0.01M, 0.001M et 0.0001M ont été testées et les résultats des ratios concordant se trouvent aussi dans ce tableau. Ils indiquent la présence majoritaire du monomère cyclique dès la première dilution, mais ne permettent pas nécessairement de compléter la réaction (présence du monomère linéaire après 30 minutes). Les chromatogrammes correspondants peuvent être visualisés dans le chapitre suivant.

Le composé **88** est cyclisé avec une concentration de 0.01M. Il permet l'obtention de monomère cyclique **99**, mais le monomère linéaire **88** (le substrat) est toujours présent après 30 min de réaction. Les ratios correspondants sont dans le tableau retrouvé plus bas (et les chromatogrammes sont insérés dans le Chapitre VII).

Schéma 6.3 Cyclisation *click* de 88.

Les composés résultant du couplage entre les dipeptides D-Ala-L-Phe-prop **73** et L-Ala-D-Phe-prop **77** et le sucre **61** synthétisé au Chapitre 5 sont ici cyclisés par *click* dans les mêmes conditions que précédemment dans le but d'étudier et de comparer la stéréochimie de composés semblables au dipeptide ci-dessus (L-Ala-L-Phe). Les concentrations testées sont 0.001M et 0.0001M. Les mêmes analyses CL-SM ont été effectuées sur une fraction de la réaction après trente minutes et les résultats sont répertoriés dans le Tableau 6.1 (et dans le chapitre suivant).

Schéma 6.4 Cyclisation *click* de 89.

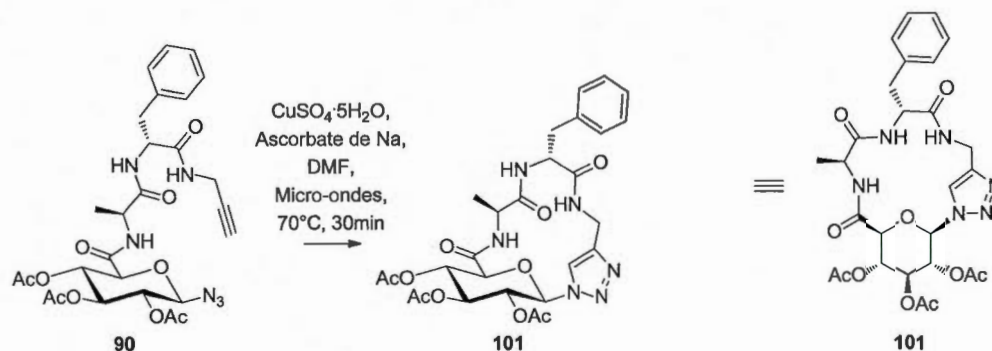


Schéma 6.5 Cyclisation *click* de **90**.

6.1.2 Séquence dipeptides et tripeptides (L-Ala)-L/D-Pro-L-Phe

Les dipeptides et tripeptides composés de la proline et déjà couplés à l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy-β-D-glucopyranuronique **61** dans le chapitre précédent sont ici cyclisés par la chimie *click* dans les mêmes conditions. Une concentration de 0.001M a été utilisée pour les quatre peptides et une autre de 0.01M a été testée pour le composé **91**. Les résultats des analyses CL-SM se retrouvent aussi dans le tableau de la section suivante alors que les chromatogrammes sont insérés dans le chapitre suivant.

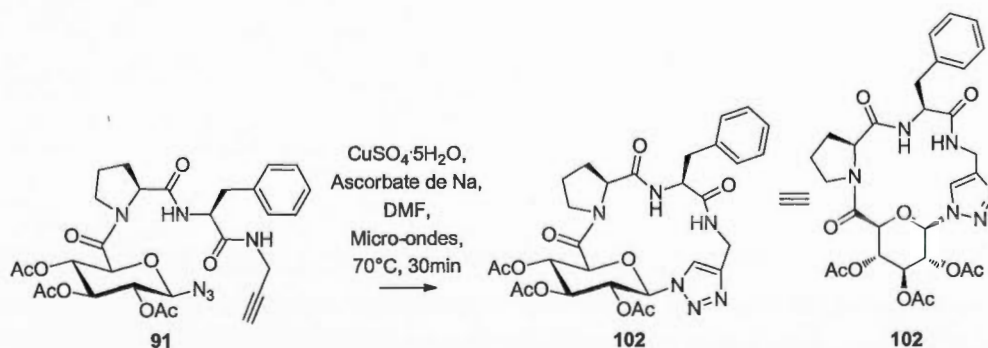
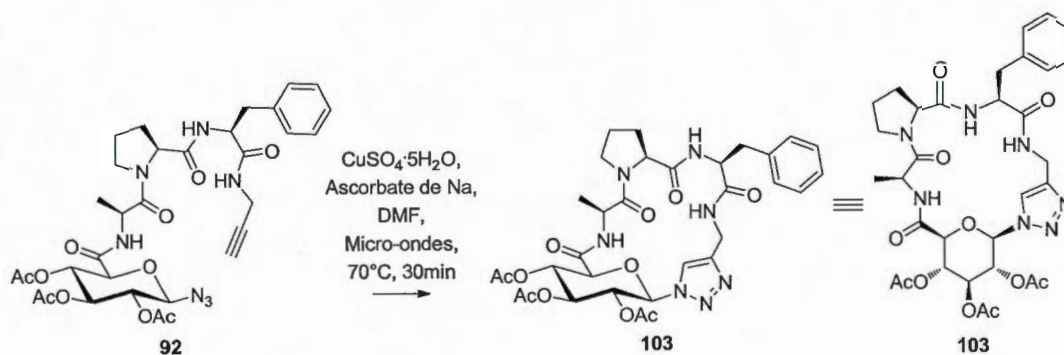
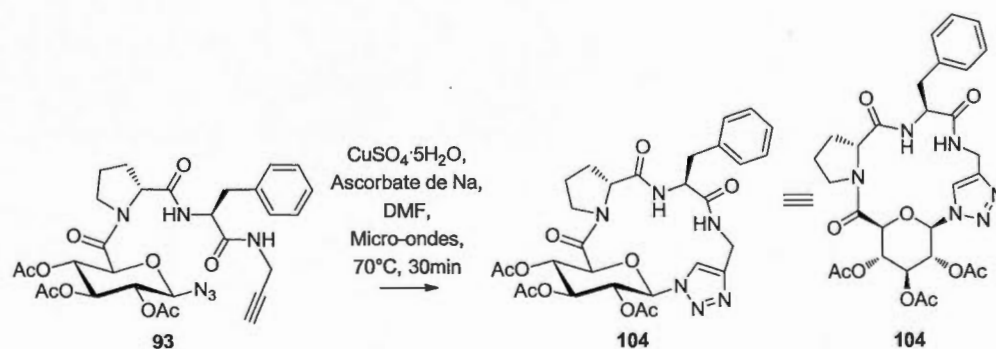
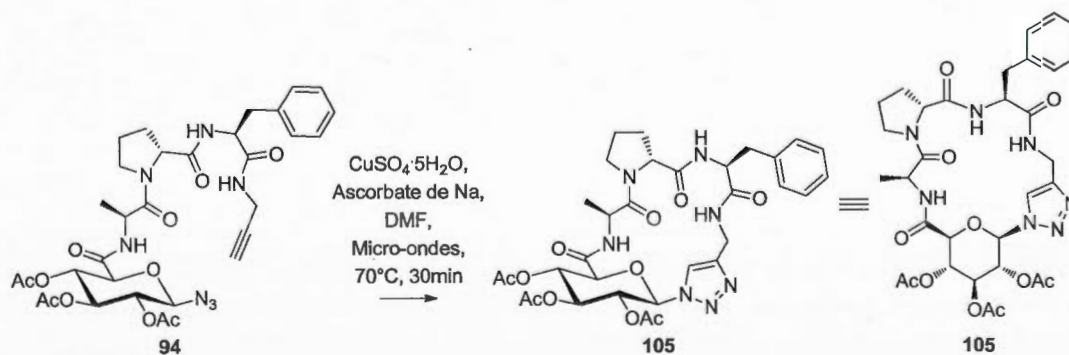


Schéma 6.6 Cyclisation *click* de **91**.

Schéma 6.7 Cyclisation *click* de **92**.Schéma 6.8 Cyclisation *click* de **93**.Schéma 6.9 Cyclisation *click* de **94**.

6.2 Analyses des résultats des cyclisations

Tel que déjà mentionné, les produits de chaque réaction de cette section, observés sur les chromatogrammes CL-SM, sont répertoriés ici. Les monomères, dimères et oligomères (pour simplifier les résultats) sont représentés par un signal chacun. Ces signaux possèdent une aire qui est utilisée pour calculer le ratio des composés. Toutes les conditions de réaction sont identiques, sauf le premier solvant utilisé (eau/méthanol), remplacé par le DMF par la suite à cause de problèmes de solubilité, et les concentrations, qui représentent le facteur varié au cours des tests. En effet, la concentration est importante pour ce genre de réaction. Une plus grande proportion de monomère cyclique pourrait être obtenue en conditions plus diluées. Cette hypothèse ainsi que celles concernant les variations de stéréochimie et la longueur des molécules peptidiques seront affirmées ou infirmées suite à l'analyse de ce tableau. En effet, le stéréoisomère L pourrait favoriser la cyclisation monomérique plus efficacement que le D (ou vice versa) de même qu'une longue molécule linéaire pourrait le faire de manière plus efficace qu'une courte structure pré-cyclique.

Tableau 6.1 Ratios des composés observés après la cyclisation *click*.

			Ratios correspondants aux aires sous les signaux (total=100)				
Molécule	AA	Conc (M)	Mono- linéaire*	Di- linéaire	Mono- cyclique	Di- cyclique	Autres **
Série Phe, Ala-Phe							
95	L-Phe	0.1	0.0	0.0	0.0	98.0	2.0
97a-1	L-Ala-L-Phe	0.1	0.0	0.0	3.4	57.2	39.4
97a-2			0.0	0.0	9.3	89.5	1.2
97 total	L-Ala-L-Phe	0.1	0.0	0.0	5.7	69.8	24.5
97b	L-Ala-L-Phe	0.01	10.9	10.4	57.3	19.9	1.5
97c	L-Ala-L-Phe	0.001	18.4	3.0	73.9	4.2	0.4
100a	D-Ala-L-Phe	0.001	13.1	4.2	80.5	0.3	2.0
101a	L-Ala-D-Phe	0.001	18.0	5.7	74.5	0.2	1.7
97d	L-Ala-L-Phe	0.0001	3.3	0.0	96.7	0.0	0.0
100b	D-Ala-L-Phe	0.0001	0.0	0.1	99.4	0.5	0.0
101b	L-Ala-D-Phe	0.0001	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0
99	L-Ala-L-Ala-L-Phe	0.01	28.1	9.0	54.5	5.9	2.6
Série Pro-Phe, Ala-Pro-Phe							
102a	L-Pro-L-Phe	0.01	6.1	0.0	87.4	3.7	2.8
102b	L-Pro-L-Phe	0.001	4.7	0.0	94.1	0.8	0.3
104	D-Pro-L-Phe	0.001	0.0	4.1	95.9	0.0	0.0
103	L-Ala-L-Pro-L-Phe	0.001	47.4	6.4	44.4	0.0	1.8
105	L-Ala-D-Pro-L-Phe	0.001	45.4	0.0	54.6	0.0	0.0

* Mono-linéaire représente en fait le réactif non-consommé durant la réaction.

** La colonne *Autres* indique la proportion d'oligomères (*tri-*, *tétra-*, etc.) formés.

Les divers temps de rétention (qui peuvent être retrouvés dans le chapitre suivant) sont semblables d'une réaction à l'autre puisque les mêmes conditions de colonne ont été utilisées à chaque nouveau test. Le monomère et le dimère linéaire ou cyclique sont désignés ainsi vu les temps de rétention (une petite molécule peut sortir plus facilement de la colonne). Les tri-, tétra- et pentamères observés, soient les oligomères, semblent être cycliques selon les temps de rétention des signaux correspondants. Il n'y a pas moyen, par contre, d'en être absolument certain à ce niveau-ci. En effet, les masses précises des composés linéaires (pré-*click* intramoléculaire ou suite à une *click* intermoléculaire) sont les mêmes que celles des

composés correspondants cycliques (*click* intramoléculaire ou intermoléculaire respectivement), tel qu'il a déjà été discuté plus tôt. C'est ce qui fait en sorte que des analyses par spectrométrie de masse seulement, sans chromatographie liquide préalable, ne sont pas suffisantes pour des cas comme ceux-ci.

Une concentration de 0.1M a été utilisée pour les deux premières *click* effectuées. Le composé **95** constitué seulement de la L-Phe n'a pas permis l'obtention du monomère cyclique. Seulement le dimère cyclique (98.0%) et le tétramère (2.0%) ont été obtenus.

Lorsque la version L-Ala-L-Phe (**97a**) a été cyclisée avec la même concentration, une petite quantité de monomère cyclique a été obtenue pour chaque solide isolé lors de la manipulation (total de 5.7%), tel que prédit par l'analyse des spectres de masse. Beaucoup de dimère cyclique (total de 69.8%), tétramère et un peu de pentamère (total de 24.5%) sont aussi observés. Cela permet de conclure que la réaction est complète, mais ne s'est pas déroulée comme prévu. Aussi, la présence d'un acide aminé supplémentaire, la L-Ala, semble permettre à la *click* de former une petite quantité de monomère cyclique, au contraire du composé possédant seulement un acide aminé (**95**, 0%). Les trois atomes supplémentaires permettraient donc un meilleur repliement de la molécule linéaire et un meilleur recouvrement des extrémités, ce qui facilite la cyclisation.

Le même dipeptide a été cyclisé dans des conditions 10x, 100x et 1000x plus diluées (les mêmes quantités de réactifs ont été employées). La première dilution (**97b**, concentration de 0.01M) a permis l'obtention de dix fois plus de monomère cyclique, soit 57.3%. Le dimère cyclique a été obtenu à 19.9% et seulement 1.5% de trimère ont été observés. Par contre, 10.9 et 10.4 % de monomère linéaire et de dimère cyclique ont respectivement été obtenus. Ce sont les temps de rétention qui permettent d'assigner le premier signal au monomère linéaire : il aurait plus de facilité à traverser la colonne de silice. Le deuxième signal serait celui du monomère cyclique qui est probablement ralenti par son rayon moléculaire plus élevé. Cela prouve que la concentration de 0.1M a permis une réaction complète mais que la dilution présente aurait demandé un temps de réaction plus long pour permettre aux composés

linéaires de se cycliser totalement. Une dilution plus importante pourrait d'ailleurs permettre d'éviter le dimère linéaire tout en favorisant la cyclisation sous forme monomérique.

Il semblerait qu'une dilution de 100x (**97c**, 0.001M) ne permet pas non plus une réaction complète, mais permet l'obtention majoritaire du monomère cyclique. En effet, 18.4% de monomère linéaire et 73.9% de monomère cyclique ont été observés. En plus de ces monomères, du dimère linéaire et du dimère cyclique ont été obtenus à 3.0 et 4.2 % respectivement, de même que des traces de trimères (0.4%).

Une dilution de dix fois supérieure à la précédente (**97d**, 0.0001M) a permis la consommation quasiment complète du substrat monomère linéaire (dilution de 1000x). Seulement 3.3% ont été observés après 30 minutes. La proportion de monomère cyclique obtenue augmente de 73.9 à 96.7 % pour cette concentration. Aucun dimère linéaire ou cyclique n'est observé de même pour les oligomères. Ces résultats sont les plus encourageants jusqu'à présent puisque le monomère cyclique est le produit espéré. Il semble qu'il suffirait simplement de laisser la réaction se compléter pour observer seulement du monomère cyclique.

Lorsque le stéréoisomère L-Ala-D-Phe a été utilisé, les résultats étaient semblables aux précédents à la concentration de 0.001M (**101a**). 18.0% de monomère linéaire, 5.7% de dimère linéaire, 74.5% de monomère cyclique, 0.2% de dimère cyclique et 1.7% d'oligomères (tri- et tétramères) ont été obtenus. Un ratio plus intéressant de monomère cyclique a été obtenu avec le stéréoisomère inverse, le D-Ala-L-Phe, à cette même concentration (**100a**). En effet, 80.5% de ce dernier a été observé après 30 minutes, alors que 13.1% de monomère linéaire, 4.2% de dimère linéaire, 0.3% de dimère cyclique et 2.0% d'oligomères (tri- et tétramères) ont été observés. Ceci permet de conclure que la présence du D-Ala pourrait légèrement faciliter la réaction *click* de façon monomérique par rapport au L-Ala.

En revanche, les concentrations de 0.0001M ne permettent pas une telle conclusion concernant la stéréochimie puisque les résultats sont très semblables (et très encourageants). Des ratios nuls ou du moins inférieurs à 1% sont obtenus pour chacun des composés précédemment observés, sauf pour ce qui est des monomères cycliques, qui ont été obtenus à

99.4% et 100.0% respectivement pour les stéréoisomères D-Ala-L-Phe (**100b**) et L-Ala-D-Phe (**101b**). La concentration de 0.0001M semble donc intéressante pour la formation du monomère cyclique seulement en aussi peu de temps réactionnel.

Le composé comprenant le tripeptide L-Ala-L-Ala-L-Phe (**99**) a été cyclisé à une concentration de 0.01M. Cela semble permettre la formation du monomère cyclique dans un ratio semblable à celui de L-Ala-L-Phe (**97b**) à la même concentration (54.5% vs 57.3%). Le monomère linéaire est moins consommé pour un même temps de réaction (28.1% restants vs 10.9%) alors que le dimère cyclique semble avoir moins tendance à se former (5.9% vs 19.9%). L'allongement de trois atomes semble donc ralentir la réaction mais lui permet de procéder avec plus de contrôle vis-à-vis la cyclisation du monomère.

Pour la deuxième série de composés, une comparaison de deux concentrations avec le composé constitué du dipeptide L-Pro-L-Phe a été faite. La première, à 0.01M (**102a**), a permis la consommation presque totale du monomère linéaire, retrouvé à 6.1%. De plus, aucun dimère linéaire n'a été observé, mais 3.7% de dimère cyclique est présent après 30 minutes, de même que 2.8% de trimères. 87.4% de monomère cyclique sont obtenus. Lorsqu'une concentration 10x plus diluée est employée (**102b**, 0.001M), 4.7% de monomère linéaire sont observés, de même que 0.8% de dimère cyclique, 0.3% de trimères et 94.1% de monomère cyclique. Ces derniers résultats sont plus encourageants puisque les oligomères sont observés avec des ratios plus petits. C'est d'ailleurs pour cette raison que la concentration de 0.001M est utilisée pour les 3 autres composés constitués de la proline qui ont été synthétisés.

La cyclisation du composé dipeptidique D-Pro-L-Phe (**104**) permet seulement des traces de dimère linéaire (4.1%) et une quantité très intéressante de monomère cyclique, 95.9%. Le dimère cyclique ou les oligomères ne sont pas présents au bout de 30 min. Ceci permettrait de conclure en l'efficacité de la D-Pro, qui pourrait permettre un meilleur repliement de la molécule linéaire par rapport à la L-Pro, ce qui faciliterait la cyclisation monomérique au lieu d'encourager la dimérisation. Les résultats suivants semblent appuyer cette hypothèse.

L'élongation de la chaîne linéaire par trois atomes retrouvés dans le L-Ala a mené aux derniers résultats retrouvés dans le tableau. Il semblerait que la réaction était loin d'être complète pour les deux : 47.4% du monomère linéaire ont été observés après 30 minutes (toujours à 0.001M) pour le tripeptide L-Ala-L-Pro-L-Phe (**103**) alors que 45.4% du monomère linéaire correspondant au tripeptide L-Ala-D-Pro-L-Phe (**105**) étaient présents. Seul le premier (L-Pro, **103**) a permis la présence du dimère linéaire (6.4%) et du trimère (1.8%). La D-Pro (**105**) a plutôt favorisé, ici aussi, le monomère cyclique avec un pourcentage de 54.6% par rapport à 44.4% pour le L-Pro (**103**). La même conclusion concernant la D-Pro peut être faite ici : elle permettrait un repliement supportant la cyclisation monomérique, ce que la L-Pro ne permet pas, du moins pas aussi favorablement.

Les présents résultats permettent de conclure en plusieurs points intéressants reliés aux diverses concentrations et aux stéréochimies des composés cyclisés, tel que mentionné ci-après. Cela orientera les futures réactions et tests reliés au projet.

CONCLUSION

Les synthèses de l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranuronique et des peptides propargylés ont été réussies avec des rendements intéressants. Plusieurs de ces peptides propargylés sont d'ailleurs de nouveaux composés. La structure de chacun a été confirmée par RMN et par spectrométrie de masse haute résolution, entre autres, et les couplages peptides entre l'acide et ces peptides ont été effectués. Les rendements de ces couplages n'ont pas été optimisés : une petite masse de chacun seulement était nécessaire pour tester les conditions de cyclisations par chimie *click*. Une concentration optimale de 0.0001M a été déterminée pour les composés constitués des deux acides aminés L-Ala et L-Phe. Cette concentration n'a pas été testée pour le dipeptide L-Pro-L-Phe, mais celle de 0.001M a permis de meilleurs résultats que 0.01M, ce qui suit l'hypothèse de la dilution. Sans changer les conditions de réaction, un temps de réaction plus long pourrait être testé à une concentration diluée pour permettre au monomère linéaire de se transformer entièrement en monomère cyclique sans favoriser la formation de ces oligomères.

L'objectif de cyclisation du monomère linéaire (le substrat des cyclisations) en monomère cyclique a donc été atteint dans la plupart des cas. Néanmoins, les analyses CL-SM sont les seules à avoir été effectuées (sauf pour un cas) et les conditions optimales n'ont pas été testées sur tous les composés et sur des masses assez importantes pour permettre son isolation et son analyse détaillée, tel que l'objectif en entier le spécifiait.

Les travaux futurs consistent en l'optimisation des conditions du couplage peptidique entre le sucre et les peptides propargylés et la réalisation de réactions de cyclisation débutant avec une masse plus importante et utilisant les conditions les plus intéressantes, soient les plus diluées. Aussi, l'analyse complète du monomère cyclique qui sera isolé par purification ou même sera le seul composé observé permettra de compléter le présent travail.

Si de futures analyses en milieu biologique mènent à des résultats intéressants, les objectifs à long terme du présent travail seront atteints et l'impact du projet sera ainsi encore plus intéressant que ce que les résultats présentés ici symbolisent. Dans un tel cas ou même si les résultats semblent pouvoir être optimisés, la méthode pourrait être étendue à d'autres sucres que l'acide glucuronique et d'autres acides aminées que les quelques-uns testés durant le délai du projet. Cela pourrait améliorer les chances d'obtention de composés inhibiteurs des interactions protéines-protéines tout en augmentant l'étendue des composants biologiques visés.

CHAPITRE VII

PARTIE EXPÉRIMENTALE

7.1 Généralités

La nomenclature utilisée pour les glyconjugués est celle publiée en 2005.⁴⁷ Pour les peptides, la nomenclature correspondante est utilisée⁵³ mais est souvent remplacée par une version condensée permettant d'alléger le texte précédent.

7.1.1 Produits, solvants, suivis de réaction et purifications

Les produits (substrats et réactifs) commerciaux nécessaires ont été achetés auprès de Sigma Aldrich ou Alfa Aesar et ont été utilisés tel quel. Les solvants employés pour les réactions (DCM, DMF) étaient de qualité HPLC et étaient conservés sur tamis moléculaire jusqu'à leur utilisation (lorsque nécessaire). Les solvants utilisés pour les purifications sur silice étaient de qualité ACS et ont été utilisés tels quels. Leur évaporation a été effectuée à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression réduite.

L'évolution des réactions a été suivie à l'aide de la chromatographie sur couche mince (CCM) sur plaque de gel de silice (Merk 60 F₂₅₄). Les systèmes d'éluants utilisés ont été adaptés selon la polarité des molécules concernées. La révélation des CCM a été effectuée par irradiation sous lumière UV ($\lambda = 254$ nm) et par trempage dans des révélateurs spécifiques : une solution oxydante de molybdate (préparée avec 25 g de molybdate d'ammonium, 10 g de sulfate cérique, 900 mL d'eau et 100 mL de H₂SO₄ concentré) ou une autre de permanganate de potassium (préparée avec 2 g de KMnO₄, 4 g de K₂CO₃ et 200 mL

d'eau) puis par chauffage à 300 °C. Les séparations par chromatographie rapide ont été réalisées sous pression d'air comprimé sur colonne de gel de silice (*Silice-P Flash Silica Gel*, Silicycle) avec l'éluant indiqué.

Les phases organiques ont été séchées à l'aide du sel sulfate de magnésium MgSO_4 , qui est ensuite éliminé par filtration sur fritté sous vide ou bien sur ouate avant la concentration du produit brut.

L'appareil utilisé pour effectuer les couplages par chimie *click* est le *Initiator* de Biotage. Les conditions étaient une absorbance de niveau normal, une pré-agitation de 10 secondes, une température réactionnelle de 70°C et une durée de 30 minutes. La grosseur de vial utilisé variait pour chaque expérience en fonction du volume réactionnel (qui varie avec la concentration).

7.1.2 Analyses physico-chimiques

Les températures de fusion ont été mesurées sur un appareil de type Fisher Jones ou Thermo Scientific (*Mel-Temp 3.0*) et n'ont pas été corrigées.

Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés sur un polarimètre JASCO *P-1010* et ont été enregistrés à la température et à la concentration (c , en g/100mL) spécifiées.

Les analyses infrarouge (IR) ont été effectuées à l'aide de l'appareil *Nicolet 6700 FT-IR* de Thermo Scientific. Une correction de la ligne de base est la seule modification effectuée sur les spectres obtenus. Les nombres d'ondes correspondants aux groupements fonctionnels importants sont simplement reportés ici.

Les analyses de résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton et du carbone ont été effectuées avec l'appareil *Varian-Innova AS600* à une fréquence de 600 MHz pour les RMN- ^1H et 151 MHz pour les RMN- ^{13}C . Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en partie par million (ppm) par rapport au tétraméthylsilane (utilisé comme référence interne). Les solvants utilisés varient selon la solubilité des composés et sont spécifiés à chaque

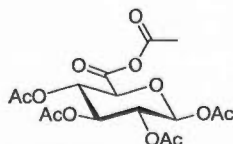
nouvelle analyse : ils permettent une référence précise (par exemple 7.27 ppm pour l'hydrogène et 77.0 ppm pour le carbone du CHCl_3). La notation utilisée pour la description des spectres est la suivante : s (singulet), sl (singulet large), d (doublet), dd_{app} (doublet de doublet apparent), t (triplet), m (multiplet), H_{arom.} (protons aromatiques), C_{arom} (carbone aromatique quaternaire) et CH_{arom} (carbone aromatique tertiaire). L'assignation est faite à l'aide des expériences bidimensionnelles homo- ou hétéronucléaires COSY (*CORrelated Spectroscopy*) et HETCOR (*HETeronuclear CORrelation*) (ou HMQC, *Heteronuclear Multiple Quantum Coherence*) respectivement.

Les mesures de masses exactes par spectrométrie de masse haute résolution ont été réalisées sur un instrument TOF-MS (*Time of Flight Mass Spectrometry*) et les mesures de masses exactes précédées de la chromatographie liquide à haute performance ont été réalisées sur un instrument LC-MS-TOF (*Liquid Chromatography Mass Spectrometry Time of Flight*) par la « Plateforme analytique pour molécules organiques » de l'Université du Québec à Montréal. La source utilisée est l'électrospray en mode positif (capillaire à 4000V pour le scan, température du gaz à 350 °C, débit du gaz à 12 L/min, nébuliseur à 35 PSI et domaine du rapport masse sur charge m/z de 100 à 2000, fragmenteur à 100V, *skimmer* à 60V pour le spectromètre de masse). Un volume de 1 µL a été injecté dans une colonne d'Agilent (XDB-C18 1.8µm, 4.6 x 50 mm) à un débit de 0.5 mL/min en utilisant une phase mobile composée de divers ratios de deux éluants (0.1% d'acide formique dans l'eau ou dans ACN).

7.2 Procédures et caractérisation

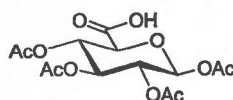
7.2.1 Synthèse de l'acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy-β-D-glucopyranuronique **61**

Anhydride 1,2,3,4-tétra-*O*-acétyl-β-D-glucopyranuronique⁴⁷ (**56**)



Ac₂O (16 mL) sont ajoutés à l'acide D-glucuronique (1.00 g, 5.15 mmol) et le mélange obtenu est agité 5 min à 0 °C sous azote. Le composé I₂ (87 mg, 0.34 mmol, 0.065 éq.) est ensuite ajouté petit à petit et le résultat est agité 2h à 0 °C puis 3h à TP, toujours sous azote. Le mélange réactionnel est concentré puis dilué dans DCM et lavé 2 fois avec une solution aqueuse froide de Na₂S₂O₃ 1M. La phase organique est ensuite séchée, filtrée et concentrée. Le produit brut est dissout dans un minimum de DCM et de l'éther de pétrole est ajouté dans le but de permettre la cristallisation à -15 °C de l'isomère β. Les cristaux obtenus sont filtrés et séchés après 24h à -15 °C. Un rendement de 78% est obtenu par l'isolation de 1.62 g (4.01 mmol) de **56**. *R_f*: 0.33 (DCM/MeOH 8 : 2) ; *T*_{°_{fus}} : 127 à 128 °C (EP/éther) ; $[\alpha]_D^{23.5}$: +1.9 (*c*=0.5, CHCl₃) ; **RMN-¹H (600 MHz, CDCl₃, 18.5°C)** : δ (ppm) = 5.80 (d, 1H, ³*J*_{1,2} = 6.95 Hz, *H*₁), 5.36 (t, 1H, ³*J*_{3,4} = ³*J*_{4,5} = 9.27 Hz, *H*₄), 5.28 (t, 1H, ³*J*_{2,3} = ³*J*_{3,4} = 8.58 Hz, *H*₃), 5.11 (t, 1H, ³*J*_{1,2} = ³*J*_{2,3} = 7.56 Hz, *H*₂), 4.31 (d, 1H, ³*J*_{4,5} = 8.56 Hz, *H*₅), 2.27 (s, 3H, COOCOCH₃), 2.11, 2.05, 2.04, 2.03 (4 x s, 12H, 4 x COCH₃) ; **RMN-¹³C (151 MHz, CDCl₃)** : δ (ppm) = 170.4, 170.0, 169.9, 169.3 (4 x COCH₃), 165.4, 163.2 (COOCO), 92.0 (*C*₁), 73.6 (*C*₅), 71.9 (*C*₃), 70.7 (*C*₂), 68.7 (*C*₄), 22.7 (COOCOCH₃), 21.4, 21.2, 21.1 (4 x COCH₃). Les données spectrales concordent avec la littérature.⁴⁷

Acide 1,2,3,4-tétra-*O*-acétyl-β-D-glucopyranuronique⁴⁷ (**57**)

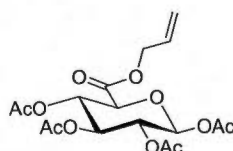


Le composé **56** (1.22 g, 3.02 mmol) est dissout dans 13 mL de THF et 6.7 mL d'eau. Le tout est agité 20h puis concentré, coévaporé avec du toluène et séché. Un rendement de 99% est obtenu, soit 1.08 g (2.98 mmol). *R_f*: 0.18 (DCM/MeOH 8 : 2) ; *T*_{°_{fus}} : 156 à 157 °C (cristallisé dans toluène) (Litt.⁵⁷ *T*_{°_{fus}} : 152 à 154 °C, cristallisé dans toluène) ; $[\alpha]_D^{24}$: +12.7 (*c*=0.5, CHCl₃) (Litt.⁵⁷ $[\alpha]_D^{20}$: +16.3 (*c*=0.5, CHCl₃)) ; **RMN-¹H (600 MHz, CDCl₃, 22.3°C)** : δ (ppm) = 6.27 (sl, 1H, COOH), 5.78 (d, 1H, ³*J*_{1,2} = 7.63 Hz, *H*₁), 5.31 (t, 1H, ³*J*_{2,3} = ³*J*_{3,4} = 9.04 Hz, *H*₃), 5.27 (t, 1H, ³*J*_{3,4} = ³*J*_{4,5} = 9.24 Hz, *H*₄), 5.12 (t, 1H, ³*J*_{1,2} = ³*J*_{2,3} = 8.21 Hz, *H*₂),

⁵⁷ Fry, E.M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, 77, 3915-3916.

4.24 (d, 1H, $^3J_{4,5} = 9.31$ Hz, H_5), 2.11, 2.04, 2.03, 2.02 (4 x s, 12H, 4 x COCH_3) ; **RMN- ^{13}C** (151 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) = 170.8, 170.7, 170.1, 170.0, 169.8 (COOH , 4 x COCH_3), 91.9 (C_1), 73.0 (C_5), 72.4 (C_3), 70.7 (C_2), 69.3 (C_4), 21.4, 21.2 (4 x COCH_3). Les données spectrales concordent avec la littérature.⁴⁷

1,2,3,4-Tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranoate d'allyle⁴⁷ (63)

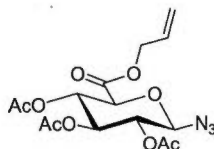


Première méthode : Le composé **57** (400 mg, 0.989 mmol) est dissout dans 9.9 mL de DCM sec sous azote et l'alcool allylique (89.5 μL , 1.29 mmol, 1.30 éq.) et la pyridine (120 μL , 1.48 mmol, 1.50 éq.) sont ajoutés pour former l'acide. Le tout est agité sous azote 18h à TP. 248 mg de DCC (1.19 mmol, 1.20 éq.) sont ajoutés dans le but de former l'allyle et l'agitation est maintenue 6h. Le mélange réactionnel est filtré avec DCM dans le but d'en éliminer l'urée précipitée et le solvant est évaporé. Le tout est dilué avec DCM puis lavé avec une solution aqueuse de HCl 1M, une solution saturée de NaHCO_3 et une autre de NaCl. La phase organique est séchée, filtrée et concentrée. Le produit brut est ensuite dissout dans un minimum d'AcOEt, bien solubilisé, et laissé à -15°C pour le week-end. Le produit brut **63** est ensuite filtré à l'aide d'AcOEt froid, puis purifié sur silice (Hexanes/AcOEt de 100 : 0 à 70 : 30). Un rendement de 82% (326 mg, 0.810 mmol) est obtenu.

Deuxième méthode : Le composé **57** (250 mg, 0.690 mmol) est dissout dans 6.9 mL de DCM sec sous azote, le tout est mis à 0°C et le $(\text{COCl})_2$ (149 μL , 1.73 mmol, 2.50 éq.) suivi du DMF (1 goutte). Le tout est agité 30 min à 0°C et 1h30 à TP. Le mélange réactionnel est concentré, redissout dans 6.9 mL de DCM, ramené à 0°C puis l'alcool allylique (52.7 μL , 0.759 mmol, 1.1 éq.) et la pyridine (84.1 μL , 1.04 mmol, 1.50 éq.) sont ajoutés. Le tout est agité sous azote 30 min à 0°C puis 1h30 à TP. Le tout est dilué avec DCM puis lavé avec une solution aqueuse de HCl 1M et une solution saturée de NaHCO_3 . La phase organique est séchée, filtrée et concentrée. Le produit brut **63** est ensuite purifié sur

silice (Hexanes/AcOEt de 100 : 0 à 70 : 30). Une masse de 257 mg (0.639 mmol) est obtenue, soit un rendement de 93%. R_f : 0.25 (Hexanes/AcOEt 6 : 4) ; T_{fus}° : 107 à 108 °C (après trituration dans EP chaud) (Litt.⁴⁷ T_{fus}° : 95 à 97 °C, trituré dans EP) ; $[\alpha]_D^{24,3}$: +12.7 ($c=0.4$, acétone) (Litt.⁴⁷ $[\alpha]_D^{20}$: +17.0 ($c=0.4$, acétone)) ; **RMN-¹H (600 MHz, CDCl₃, 22.3°C)** : δ (ppm) = 5.91 – 5.82 (m, 1H, OCH₂CH=CH₂), 5.76 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 7.75$ Hz, H_1), 5.36 – 5.20 (m, 4H, H_3 , H_4 , OCH₂CH=CH₂), 5.12 (t, 1H, $^3J_{1,2} = ^3J_{2,3} = 8.36$ Hz, H_2), 4.65 – 4.53 (m, 2H, OCH₂CH=CH₂), 4.19 (d, 1H, $^3J_{4,5} = 9.65$ Hz, H_5), 2.09, 2.02, 2.01, 2.00 (4 x s, 12H, 4 x COCH₃) ; **RMN-¹³C (151 MHz, CDCl₃)** : δ (ppm) = 170.5, 170.0, 169.8, 169.4 (4 x COCH₃), 166.7 (COOCH₂CH=CH₂), 131.6 (OCH₂CH=CH₂), 120.3 (OCH₂CH=CH₂), 91.9 (C_1), 73.6 (C_5), 72.5 (C_3), 70.8 (C_2), 69.5 (C_4), 67.4 (OCH₂CH=CH₂), 21.4, 21.2 (4 x COCH₃). Les données spectrales concordent avec la littérature.⁴⁷

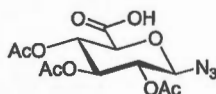
2,3,4-Tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy- β -D-glucopyranoate d'allyle⁴⁷ (64)



Le composé **63** (226 mg, 0.562 mmol) est dissout dans 11.2 mL de DCM sec sous azote et SnCl₄ (34 μ L, 0.28 mmol, 0.50 éq.) et TMSN₃ (309 μ L, 2.24 mmol, 4.00 éq.) sont ajoutés. Le tout est agité sous azote à TP 16h. Le mélange réactionnel est dilué avec DCM, lavé avec 1M KHSO₄ 2 fois puis NaCl saturé. La phase organique est séchée, filtrée et concentrée puis le produit brut **64** est purifié sur silice (Hexanes/AcOEt de 100 : 0 à 70 : 30). Une masse de 166 mg est isolée, soit 77% (0.431 mmol). R_f : 0.36 (Hexanes/AcOEt 6 : 4) ; T_{fus}° : 99 à 101 °C (non cristallisé) ; $[\alpha]_D^{24,7}$: -1.5 ($c=0.4$, acétone) ; **IR** : 2117 (N₃) ; **RMN-¹H (600 MHz, CDCl₃, 22.3°C)** : δ (ppm) = 5.95 – 5.85 (m, 1H, OCH₂CH=CH₂), 5.39 – 5.22 (m, 4H, OCH₂CH=CH₂, H_3 , H_4), 4.97 (t, 1H, $^3J_{1,2} = ^3J_{2,3} = 8.89$ Hz, H_2), 4.72 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 8.73$ Hz, H_1), 4.69 – 4.59 (m, 2H, OCH₂CH=CH₂), 4.15 (d, 1H, $^3J_{4,5} = 9.37$ Hz, H_5), 2.08, 2.02, 2.01 (3 x s, 9H, 3 x COCH₃) ; **RMN-¹³C (151 MHz, CDCl₃)** : δ (ppm) = 170.6, 169.9, 169.8 (3 x COCH₃), 166.4 (COOCH₂CH=CH₂), 131.6 (OCH₂CH=CH₂), 120.3

(OCH₂CH=CH₂), 88.7 (C₁), 74.9 (C₅), 72.5 (C₃), 71.0 (C₂), 69.6 (C₄), 67.5 (OCH₂CH=CH₂), 21.2 (3 x COCH₃). Les données spectrales concordent avec la littérature.⁴⁷

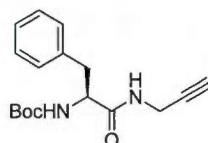
Acide 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azoture-1-désoxy-β-D-glucopyranuronique⁴⁷ (61)



Le composé **64** (629 mg, 1.63 mmol) et le Pd(PPh₃)₄ (95 mg, 0.082 mmol, 0.050 éq.) sont dissout dans 16.3 mL de ACN sec sous azote. Le tout est mis à 0 °C sous azote puis la pyrrolodine (143 µL, 1.71 mmol, 1.05 éq.) est ajoutée. Le tout est agité à 0 °C 40 min puis filtré sur célite avec AcOEt. La solution récupérée est concentrée puis le produit est repris dans un minimum d'eau et de l'AcOEt. La phase aqueuse est acidifiée à un pH de 2 avec de la résine Amberlite. Cette phase est ensuite extraite avec AcOEt 2 fois puis la phase organique est lavée avec une solution aqueuse saturée de NaCl, séchée, filtrée et concentrée. Le produit brut **61** est purifié sur silice (DCM/MeOH de 100 : 0 à 90 : 10) puis 458 mg sont isolés, soit un rendement de 82% (1.33 mmol). *R_f* : 0.23 (DCM/MeOH 8 : 2) ; *T*_{fus} : 123 à 123 °C (non cristallisé) ; *IR* : 3379 (COOH), 2117 (N₃) ; *RMN*-¹H (600 MHz, CDCl₃, 22.7 °C) : δ (ppm) = 9.47 (sl, 1H, COOH), 5.30 (t, 1H, ³*J*_{2,3} = ³*J*_{3,4} = 9.24 Hz, *H*₃), 5.26 (t, 1H, ³*J*_{3,4} = ³*J*_{4,5} = 9.29 Hz, *H*₄), 4.97 (t, 1H, ³*J*_{1,2} = ³*J*_{2,3} = 8.85 Hz, *H*₂), 4.77 (d, 1H, ³*J*_{1,2} = 8.70 Hz, *H*₁), 4.20 (d, 1H, ³*J*_{4,5} = 9.48 Hz, *H*₅), 2.08, 2.05, 2.03 (3 x s, 9H, 3 x COCH₃) ; *RMN*-¹³C (151 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) = 170.9, 170.5, 170.4, 170.0 (COOH, 3 x COCH₃), 88.6 (C₁), 74.2 (C₅), 72.5 (C₃), 71.0 (C₂), 69.5 (C₄), 21.2, 21.1 (3 x COCH₃). Les données spectrales concordent avec la littérature.⁴⁷

7.2.2 Synthèse des peptides propargylés

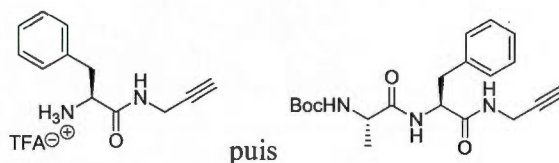
N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-L-phénylalaninyl-propargylamide ou Boc-L-Phe-prop (66)



Le composé Boc-L-Phe-OH (1.00 g, 3.77 mmol) et la NMM (583 μ L, 5.28 mmol, 1.40 eq.) sont dissous dans 38 mL de DCM distillé sous azote et le tout est agité 5 min à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (selon une procédure adaptée de Gütschow et al.⁵³). IBCF (542 μ L, 4.15 mmol, 1.10 eq.) est ajouté puis l'agitation est maintenue 1h. La propargylamine (338 μ L, 5.28 mmol, 1.40 eq.) est ajoutée et l'agitation est maintenue 19h en laissant le bain passer de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ à TP. Le mélange réactionnel est dilué avec DCM puis lavé avec une solution aqueuse de HCl 1M, une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 et une autre de NaCl. La phase organique est séchée, filtrée et concentrée. Le produit brut **66** obtenu (1.09 g) est purifié sur silice (EP/AcOEt de 100 : 0 à 85 : 15) puis isolé propre avec un rendement de 89% (1.01 g, 3.34 mmol). R_f : 0.39 (EP/AcOEt 7 : 3) ; T°_{fus} : 103 à 104 $^{\circ}\text{C}$ (non cristallisé) (Litt.⁵³ T°_{fus} : 102 à 104 $^{\circ}\text{C}$, cyclohexane) ; $[\alpha]_D^{25,3}$: +9.3 ($c=1.32$, MeOH) (Litt.⁵³ $[\alpha]_D^{20}$: +3.6 ($c=1.32$, MeOH) ; IR : 3298 (CH alcyne) ; RMN- ^1H (600 MHz, CDCl_3 , 23°C) : δ (ppm) = 7.29 – 7.15 (m, 5H, 5 x H_{arom}), 6.49 (sl, 1H, NH_{prop}), 5.18 (sl, 1H, NH_{PHE}), 4.43 – 4.33 (m, 1H, CH_{PHE}), 4.00 – 3.89 (m, 2H, $\text{CH}_{2,\text{prop}}$), 3.09 – 2.97 (m, 2H, $\text{CH}_{2,\text{PHE}}$), 2.16 (s, 1H, CH_{prop}), 1.37 (s, 9H, 3 x CH_3_{Boc}) ; RMN- ^{13}C (151 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) = 171.8 (CONH), 156.2 (OCONH), 137.2 (C_{arom}), 130.0, 129.3, 127.6 (5 x CH_{arom}), 80.9 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 79.8 ($\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$), 72.2 ($\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$), 56.3 (NHCH_{PHE}), 39.3 ($\text{CH}_{2,\text{PHE}}$), 29.7 ($\text{CH}_{2,\text{prop}}$), 28.9 (3 x CH_3_{Boc}) ; ESI-SMHR : m/z calculée pour $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 325.1528, obtenue : 325.1523. Les données spectrales concordent avec la littérature.⁵⁸

⁵⁸ Monflier, E. et al., *Carbohydr. Res.*, **2011**, 346, 210-218.

***N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-L-alanyl-L-phénylalanyl-propargylamide ou Boc-L-Ala-L-Phe-prop (68)**

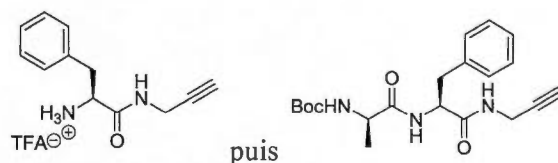


Procédure générale A (couplages EDC et HOBt) : Le composé **66** (506 mg, 1.67 mmol) est dissous dans 14 mL de DCM distillé sous azote à 0 °C puis 1.5 mL de TFA sont ajoutés. Le tout est agité à TP 2h30. Le mélange réactionnel est ensuite concentré puis co-évaporé trois fois avec du cyclohexane et une fois avec l'éther. Il est trituré avec éther/EP puis laissé à -15 °C pour 16h. Le produit **67** est ensuite filtré, séché et mis de côté pour l'étape suivante.

Le composé Boc-L-Ala-OH (348 mg, 1.84 mmol, 1.10 éq.) est dissous dans 6.0 mL de DCM sec. HOBt (451 mg, 3.34 mmol, 2.00 éq.) et EDC (640 mg, 3.34 mmol, 2.00 éq.) sont ajoutés et le tout est mis sous azote à 0 °C (selon une procédure adaptée de Van Boom et al.⁵⁴). Les composés **67** (totalité de l'étape ci-dessus) et DIPEA (588 µL, 3.34 mmol, 2.00 éq.) sont dissout dans 3.0 mL de DCM sec puis ajoutés au ballon précédent (rinçage avec 3.0 mL de DCM sec pour un total de 12 mL). L'agitation est maintenue pendant 4h30 à TP puis le mélange réactionnel est dilué avec DCM et lavé avec de l'eau, une solution aqueuse de HCl 0,5M, une solution saturée de NaHCO₃ et une autre de NaCl. La phase organique est séchée, filtrée et concentrée. Le produit brut **68** est purifié sur silice (EP/AcOEt de 100 : 0 à 30 : 70) puis 471 mg (1.26 mmol) sont isolés, soit un rendement sur 2 étapes de 75%. **R_f** : 0.38 (EP/AcOEt 3 : 7) ; **T_{fus}** : 192 à 193 °C (non cristallisé) ; **[α]_D^{25,6}** : -12.2 (c=0.2, MeOH) ; **IR** : 3294 (CH alcyne) ; **RMN-¹H** (600 MHz, CDCl₃, 22.3 °C) : δ (ppm) = 7.24 – 7.09 (m, 5H, 5 x *H_{arom}*), 6.82 (sl, 1H, *NH_{prop}*), 6.60 (sl, 1H, *NH_{PHE}*), 4.93 (d, 1H, ³*J* = 4.91 Hz, *NH_{ALA}*), 4.65 (dd_{app}, 1H, *CH_{PHE}*), 4.03 – 3.77 (m, 3H, *CH_{2,prop}*, *CH_{ALA}*), 3.20 – 2.96 (m, 2H, *CH_{2,PHE}*), 2.09 (s, 1H, *CH_{prop}*), 1.31 (s, 9H, 3 x *CH_{3,Boc}*), 1.21 (d, 3H, ³*J* = 6.98, *CH_{3,ALA}*) ; **RMN-¹³C** (151 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) = 173.1, 171.2 (2 x CONH), 156.6 (OCONH), 136.9 (*C_{arom}*), 130.0, 129.4, 127.7 (5 x *CH_{arom}*), 81.4 (*C(CH₃)₃*), 79.9 (*CH₂C≡CH*), 71.9 (*CH₂C≡CH*), 54.2 (*NHCH_{PHE}*), 51.8 (*NHCH_{ALA}*), 38.3 (*CH_{2,PHE}*), 30.4 (*CH_{2,prop}*), 28.9 (3 x *CH_{3,Boc}*), 18.6

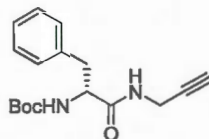
(CH_3_{ALA}) ; ESI-SMHR : m/z calculée pour $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 374.2074, obtenue : 374.2080 et $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 396.1894, obtenue : 396.1901.

***N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-D-alanyl-L-phénylalaninyl-propargylamide ou Boc-D-Ala-L-Phe-prop (72)**



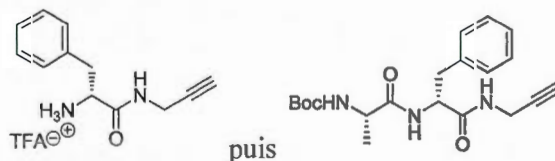
La procédure générale A est reproduite ici de façon identique pour la première étape (148 mg, 0.490 mmol de **67**), mais en utilisant le Boc-D-Ala-OH (102 mg, 0.539 mmol, 1.10 éq.) pour la seconde. Un rendement sur 2 étapes de 65% est obtenu après purification du composé **72**, soit une masse de 119 mg (0.319 mmol). R_f : 0.44 (EP/AcOEt 3 : 7) ; T°_{fus} : 159 à 159 °C (non cristallisé) ; $[\alpha]_{\text{D}}^{25,6}$: 0 ($c=0.2$, MeOH) ; IR : 3294 (CH alcyne) ; RMN- ^1H (600 MHz, CDCl_3 , 22.5°C) : δ (ppm) = 7.23 – 7.09 (m, 5H, 5 x H_{arom}), 7.01 (sl, 1H, NH_{prop}), 6.79 (sl, 1H, NH_{PHE}), 5.18 (sl, 1H, NH_{ALA}), 4.68 (dd_{app}, 1H, CH_{PHE}), 4.02 – 3.81 (m, 3H, CH_{ALA} , $\text{CH}_{2,\text{prop}}$), 3.11 – 2.98 (m, 2H, $\text{CH}_{2,\text{PHE}}$), 2.10 (t, 1H, $^3J=2,39$ Hz, CH_{prop}), 1.35 (s, 9H, 3 x CH_3_{Boc}), 1.15 (d, 3H, $^3J=7,00$ Hz, CH_3_{ALA}) ; RMN- ^{13}C (151 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) = 173.7, 171.3 (2 x CONH), 156.4 (OCONH), 137.1 (C_{arom}), 130.0, 129.3, 127.7 (5 x CH_{arom}), 81.1 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 79.9 ($\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$), 72.1 ($\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$), 54.7 (NHCH_{PHE}), 51.2 (NHCH_{ALA}), 38.4 ($\text{CH}_{2,\text{PHE}}$), 29.8 ($\text{CH}_{2,\text{prop}}$), 29.0 (3 x CH_3_{Boc}), 18.7 (CH_3_{ALA}) ; ESI-SMHR : m/z calculée pour $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 374.2074, obtenue : 374.2080 et $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 396.1894, obtenue : 396.1898.

N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-D-phénylalaninyl-propargylamide ou Boc-D-Phe-prop (74)



La procédure appliquée au composé Boc-L-Phe-OH est ici appliquée à Boc-D-Phe-OH (1.00 g, 3.77 mmol). Le composé **74** est obtenu avec un rendement de 96% (1.10 g, 3.64 mmol). R_f : 0.39 (EP/AcOEt 7 : 3) ; T_{fus}° : 100.5 à 102.0 °C (non cristallisé) ; $[\alpha]_D^{25.4}$: -9.1 ($c=1.32$, MeOH) ; IR : 3290 (CH alcyne) ; RMN- 1H (600 MHz, $CDCl_3$, 22.9°C) : δ (ppm) = 7.24 – 7.10 (m, 5H, 5 x H_{arom}), 6.49 (sl, 1H, NH_{prop}), 5.16 (sl, 1H, NH_{PHE}), 4.39 – 4.28 (m, 1H, CH_{PHE}), 3.99 – 3.84 (m, 2H, $CH_{2,prop}$), 3.06 – 2.89 (m, 2H, $CH_{2,PHE}$), 2.11 (s, 1H, CH_{prop}), 1.32 (s, 9H, 3 x $CH_{3,Boc}$) ; RMN- ^{13}C (151 MHz, $CDCl_3$) : δ (ppm) = 171.9 (CONH), 156.2 (OCONH), 137.2 (C_{arom}), 130.0, 129.3, 127.5 (5 x CH_{arom}), 80.9 ($C(CH_3)_3$), 79.8 ($CH_2C\equiv CH$), 72.2 ($CH_2C\equiv CH$), 56.3 ($NHCH_{PHE}$), 39.3 ($CH_{2,PHE}$), 29.7 ($CH_{2,prop}$), 28.9 (3 x $CH_{3,Boc}$) ; ESI-SMHR : m/z calculée pour $C_{17}H_{22}N_2O_3$ $[M+Na]^+$: 325.1523, obtenue : 325.1521.

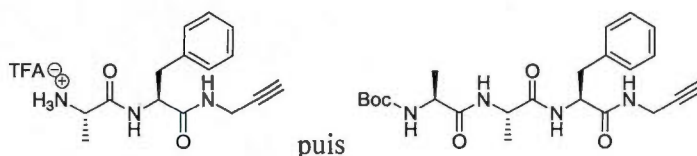
N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-L-alanyl-D-phénylalaninyl-propargylamide ou Boc-L-Ala-D-Phe-prop (76)



La procédure générale A est reproduite ici, mais en débutant avec le composé **74** (206 mg, 0.680 mmol) pour la première étape et Boc-L-Ala-OH (142 mg, 0.748 mmol, 1.10 éq.) pour la deuxième. Un rendement de 69% sur 2 étapes est obtenu après purification du composé **76**, soit une masse de 176 mg (0.471 mmol). R_f : 0.45 (EP/AcOEt 3 : 7) ; T_{fus}° : 157 à 158 °C (non cristallisé) ; $[\alpha]_D^{25.6}$: 0 ($c=0.2$, MeOH) ; IR : 3290 (CH alcyne) ; RMN- 1H (600 MHz, $CDCl_3$, 22.5°C) : δ (ppm) = 7.22 – 7.09 (m, 5H, 5 x H_{arom}), 7.06 (sl, 1H, NH_{prop}),

6.87 (sl, 1H, NH_{PHE}), 5.22 (sl, 1H, NH_{ALA}), 4.69 (dd_{app}, 1H, CH_{PHE}), 4.4 – 3.98 (m, 1H, CH_{ALA}), 3.97 – 3.81 (m, 2H, $CH_{2,prop}$), 3.11 – 2.98 (m, 2H, $CH_{2,PHE}$), 2.10 (t, 1H, $^3J = 2.47$ Hz, CH_{prop}), 1.35 (s, 9H, 3 x $CH_{3,Boc}$), 1.15 (d, 3H, $^3J = 7.00$ Hz, $CH_{3,ALA}$) ; **RMN- ^{13}C (151 MHz, $CDCl_3$)** : δ (ppm) = 173.8, 171.3 (2 x CONH), 156.4 (OCONH), 137.1 (C_{arom}), 130.0, 129.3, 127.6 (5 x CH_{arom}), 81.0 ($C(CH_3)_3$), 79.9 ($CH_2C\equiv CH$), 72.1 ($CH_2C\equiv CH$), 54.7 ($NHCH_{PHE}$), 51.2 ($NHCH_{ALA}$), 38.5 ($CH_{2,PHE}$), 29.8 ($CH_{2,prop}$), 29.0 (3 x $CH_{3,Boc}$), 18.8 ($CH_{3,ALA}$) ; **ESI-SMHR** : m/z calculée pour $C_{20}H_{27}N_3O_4$ $[M+H]^+$: 374.2074, obtenue : 374.2078 et $[M+Na]^+$: 396.1894, obtenue : 396.1897.

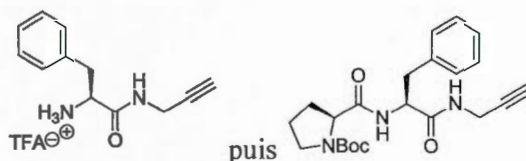
***N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-L-alanyl-L-alanyl-L-phénylalaninyl-propargylamide ou Boc-L-Ala-L-Ala-L-Phe-prop (70)**



La procédure générale A est reproduite ici, mais en débutant avec le composé **68** (548 mg, 1.47 mmol) pour la première étape et Boc-L-Ala-OH (307 mg, 1.62 mmol, 1.10 éq.) pour la deuxième. Un rendement sur 2 étapes de 64% est obtenu après purification du composé **70**, soit une masse de 418 mg (0.941 mmol). R_f : 0.18 (EP/AcOEt 3 : 7) ; $T^\circ_{décomposition}$: 210 °C (non cristallisé) ; $[\alpha]_D^{24.7}$: -69.8 ($c=0.65$, MeOH) ; **IR** : 3278 (CH alcyne) ; **RMN- 1H (600 MHz, DMSO, 22.6 °C)** : δ (ppm) = 8.40 (sl, 1H, NH_{prop}), 7.94 (d, 1H, $^3J = 7.95$ Hz, NH_{PHE}), 7.81 (d, 1H, $^3J = 7.16$ Hz, NH_{ALA}), 7.27 – 7.14 (m, 5H, 5 x H_{arom}), 6.96 (d, 1H, $^3J = 7.52$ Hz, NH_{ALA}), 4.44 (dd_{app}, 1H, CH_{PHE}), 4.21 (m, 1H, CH_{ALA}), 3.93 (m, 1H, CH_{ALA}), 3.84 (d, 2H, $^3J = 2.99$ Hz, $CH_{2,prop}$), 3.12 (s, 1H, CH_{prop}), 2.99 – 2.76 (m, 2H, $CH_{2,PHE}$), 1.36 (s, 9H, 3 x $CH_{3,Boc}$), 1.15 – 1.11 (m, 6H, 2 x $CH_{3,ALA}$) ; **RMN- ^{13}C (151 MHz, DMSO)** : δ (ppm) = 171.4, 170.9, 169.5 (3 x CONH), 154.1 (OCONH), 136.4 (C_{arom}), 128.2, 125.3 (5 x CH_{arom}), 79.8 ($C(CH_3)_3$), 77.1 ($CH_2C\equiv CH$), 72.2 ($CH_2C\equiv CH$), 52.6 ($NHCH_{PHE}$), 48.5, 47.1 (2 x $NHCH_{ALA}$), 36.6 ($CH_{2,PHE}$), 27.2 (3 x $CH_{3,Boc}$), 27.0 ($CH_{2,prop}$), 17.2, 17.0 (2 x $CH_{3,ALA}$) ; **ESI-SMHR** :

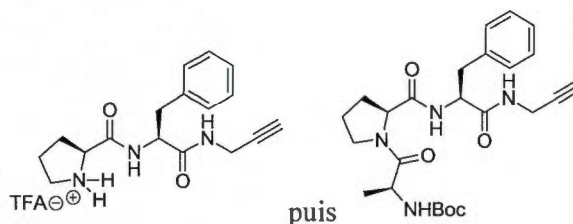
m/z calculée pour $C_{23}H_{32}N_4O_5$ $[M+H]^+$: 445.2445, obtenue: 445.2438 et $[M+Na]^+$: 467.2265, obtenue: 467.2254.

***N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*L*-prolyl-*L*-phénylalaninyl-propargylamide ou Boc-*L*-Pro-*L*-Phe-prop (78)**



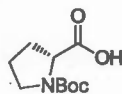
La procédure générale A est reproduite ici, mais en débutant avec le composé **66** (239 mg, 0.790 mmol) pour la première étape et Boc-*L*-Pro-OH (187 mg, 0.869 mmol, 1.10 éq.) pour la deuxième. Un rendement sur 2 étapes de 91% est obtenu après purification du composé **78**, soit une masse de 288 mg (0.721 mmol). R_f : 0.28 (EP/AcOEt 3 : 7); $[\alpha]_D^{25,0}$: -112.2 ($c=1$, MeOH); IR: 3296 (CH alcyne); RMN- 1H (600 MHz, $CDCl_3$, 22.2°C): δ (ppm) = 7.26 – 7.05 (m, 5H, 5 x H_{arom}), 6.55 – 6.35 (m, 1H, NH_{prop}), 6.26 (d, 1H, $^3J = 7.17$ Hz, NH_{PHE}), 4.73 – 4.56 (m, 1H, CH_{PHE}), 4.14 – 4.07 (m, 1H, CH_{PRO}), 4.07 – 3.74 (m, 2H, $CH_{2,prop}$), 3.39 – 2.89 (m, 4H $CH_{2,PHE}$ et $NCH_2CH_2CH_2CH$), 2.08 (s, 1H, CH_{prop}), 2.06 – 1.90 (m, 2H, $NCH_2CH_2CH_2CH$), 1.83 – 1.60 (m, 2H, $NCH_2CH_2CH_2CH$), 1.28 (s, 9H, 3 x $CH_{3,Boc}$); RMN- ^{13}C (151 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 172.3, 171.2 (CONH), 156.3 (OCON), 136.8 (C_{arom}), 130.0, 129.4, 127.8 (5 x CH_{arom}), 81.8 ($C(CH_3)_3$), 80.0 ($CH_2C\equiv CH$), 71.5 ($CH_2C\equiv CH$), 61.7 (CH_{PRO}), 53.3 ($NHCH_{PHE}$), 47.8 ($NCH_2CH_2CH_2CH$), 37.7 ($CH_{2,PHE}$), 30.1 ($NCH_2CH_2CH_2CH$), 29.8 ($CH_{2,prop}$), 28.9 (3 x $CH_{3,Boc}$), 25.1 ($NCH_2CH_2CH_2CH$); ESI-SMHR: m/z calculée pour $C_{22}H_{29}N_3O_4$ $[M+H]^+$: 400.2231, obtenue: 400.2221 et $[M+Na]^+$: 422.2050, obtenue: 422.2039.

N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-L-alanyl-L-prolyl-L-phénylalanil-propargylamide ou
Boc-L-Ala-L-Pro-L-Phe-prop (80)



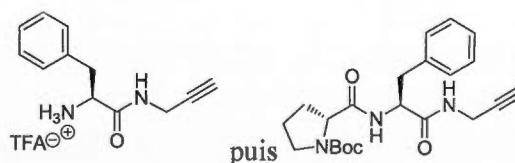
La procédure générale A est reproduite ici, mais en débutant avec le composé **78** (268 mg, 0.671 mmol) pour la première étape et Boc-L-Ala-OH (140 mg, 0.738 mmol, 1.10 éq.) pour la deuxième. Un rendement sur 2 étapes de 81% est obtenu après purification du composé **80**, soit une masse de 252 mg (0.544 mmol). R_f : 0.19 (EP/AcOEt 2 : 8) ; $[\alpha]_D^{24,9}$: -159.4 ($c=1$, MeOH) ; IR : 3298 (CH alcyne) ; RMN-¹H (600 MHz, DMSO, 125°C) : δ (ppm) = 7.69 (sl, 1H, NH_{prop}), 7.36 (sl, 1H, NH_{PHE}), 7.28 – 7.16 (m, 5H, 5 x H_{arom}), 6.11 (sl, 1H, NH_{ALA}), 4.51 (dd_{app}, 1H, CH_{PHE}), 4.39 – 4.35 (m, 1H, CH_{ALA}), 4.30 – 4.23 (m, 1H, CH_{PRO}), 3.89 – 3.86 (m, 2H, $CH_{2,prop}$), 3.64 – 3.56, 3.48 – 3.43 (2 x m, 2 x 1H, $NCH_2CH_2CH_2CH$), 3.14 – 3.08, 2.97 – 2.91 (2 x m, 2 x 1H, $CH_{2,PHE}$), 2.77 (t, 1H, $^3J = 2.40$ Hz, CH_{prop}), 2.12 – 1.76 (m, 4H, $NCH_2CH_2CH_2CH$ et $NCH_2CH_2CH_2CH$), 1.41 (s, 9H 3 x CH_3_{Boc}), 1.21 (d, 3H, $^3J = 6.79$ Hz, CH_3_{ALA}) ; RMN-¹³C (151 MHz, DMSO) : δ (ppm) = 171.6, 171.3, 170.5 (CONH), 155.1 (OCONH), 137.7 (C_{arom}), 129.2, 128.0, 126.3 (5 x CH_{arom}), 80.8 ($C(CH_3)_3$), 78.0 ($CH_2C\equiv CH$), 73.1 ($CH_2C\equiv CH$), 59.7 (CH_{PRO}), 53.6 ($NHCH_{PHE}$), 47.6 ($NHCH_{ALA}$), 46.6 ($NCH_2CH_2CH_2CH$), 37.1 ($CH_{2,PHE}$), 28.6 ($CH_{2,prop}$), 28.2 (3 x CH_3_{Boc}), 28.0 ($NCH_2CH_2CH_2CH$), 24.4 ($NCH_2CH_2CH_2CH$), 16.9 (CH_3_{ALA}) ; ESI-SMHR : m/z calculée pour $C_{25}H_{34}N_4O_5$ $[M+H]^+$: 471.2602, obtenue : 471.2597 et $[M+Na]^+$: 493.2421, obtenue : 493.2412.

N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-D-proline ou Boc-D-Pro-OH



La D-Proline (300 mg, 2.61 mmol) est dissoute dans 8.7 mL de dioxane et 4.4 mL d'eau. 2.5 mL d'une solution aqueuse de NaOH 1M et 626 mg de Boc₂O (2.87 mmol, 1.10 éq.) sont ajoutés et le mélange réactionnel est agité 3h30 (selon une procédure adaptée de Jensen et al.⁵⁹). Il est ensuite concentré puis dilué avec un mélange d'eau et extrait avec AcOEt. La phase aqueuse est ensuite acidifiée avec une solution aqueuse 3M de HCl jusqu'à pH acide puis elle est extraite 3 fois avec de l'AcOEt. La phase organique est séchée, filtrée et concentrée puis le produit est séché sous vide. Le produit **Boc-D-Pro-OH** est obtenu avec un rendement de 98% (548 mg, 2.55 mmol). *R_f*: 0.29 (EP/AcOEt, 3 : 7) ; *T*_{fus}^o : 126 à 128 °C (non cristallisé) (Litt.⁶⁰ *T*_{fus}^o : 124 à 126 °C, Hex/AcOEt) ; [*α*]_D^{25,0} : +89.2 (*c*=1, MeOH) (Litt.^{59,60} [*α*]_D²⁰ : +46.6 (*c*=1, MeOH) ou +75.5 (*c*=1, AcOH)) ; IR : 3092 (COOH) ; RMN-¹H (600 MHz, CDCl₃, 22.2°C, observations de rotamères) : δ (ppm) = 10.13 (sl, 2H, 2 x COOH), 4.37 – 4.19 (m, 2H, 2 x NCH₂CH₂CH₂CH), 3.61 – 3.31 (m, 4H, 2 x NCH₂CH₂CH₂CH), 2.32 – 2.01 (m, 4H, 2 x NCH₂CH₂CH₂CH), 2.00 – 1.82 (m, 4H, 2 x NCH₂CH₂CH₂CH), 1.47, 1.41 (2 x s, 18H, 2 x (3 x CH₃,Boc)) ; RMN-¹³C (151 MHz, CDCl₃, observations de rotamères) : δ (ppm) = 179.5, 176.6 (2 x COOH), 156.7, 154.6 (2 x OCON), 81.8, 81.0 (2 x C(CH₃)₃), 59.8, 59.7 (2 x CH_{PRO}), 47.6, 47.0 (2 x NCH₂CH₂CH₂CH), 31.5, 29.6 (2 x NCH₂CH₂CH₂CH), 29.1, 28.9 (2 x (3 x CH₃,Boc)), 25.0, 24.3 (2 x NCH₂CH₂CH₂CH). Les données spectrales concordent avec la littérature^{59,60}.

***N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-D-prolyl-L-phénylalaninyl-propargylamide ou Boc-D-Pro-L-Phe-prop (82)**



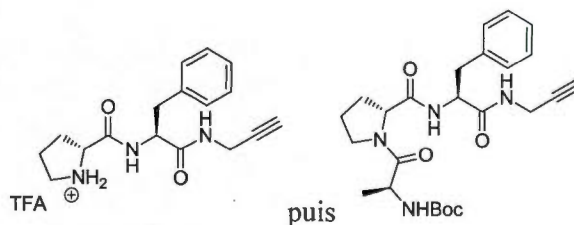
La procédure générale A est reproduite ici, mais en débutant avec le composé **66** (239 mg, 0.790 mmol) pour la première étape et **Boc-D-Pro-OH** (187 mg, 0.869 mmol, 1.10 éq.)

⁵⁹ Schjoth-Eskesen, C., Jensen, H.H., *Synthetic Communications*, **2009**, 39, 3243-3253.

⁶⁰ Clayden, J. et al., *Org. Lett.*, **2010**, 12, 2222-2225.

pour la deuxième. Un rendement sur 2 étapes de 89% est obtenu après purification du composé **82**, soit une masse de 281 mg (0.703 mmol). R_f : 0.36 (EP/AcOEt 3 : 7) ; T°_{fus} : 151 à 152 °C (non cristallisé) ; $[\alpha]_D^{24,6}$: +35.3 ($c=1$, MeOH) ; IR : 3285 (CH alcyne) ; RMN- ^1H (600 MHz, CDCl_3 , 22.1 °C) : δ (ppm) = 7.34 (sl, 1H, NH_{prop}), 7.25 – 7.09 (m, 5H, 5 x H_{arom}), 6.67 – 6.13 (m, 1H, NH_{PHE}), 4.72 – 4.52 (m, 1H, CH_{PHE}), 4.15 – 3.72 (m, 3H, $\text{CH}_{2,\text{prop}}$ et CH_{PRO}), 3.42 – 3.24 (m, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 3.21 – 2.89 (m, 2H, $\text{CH}_{2,\text{PHE}}$), 2.07 (s, 1H, CH_{prop}), 1.98 – 1.88 (m, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 1.79 – 1.68 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 1.38 (s, 9H, 3 x CH_3_{Boc}) ; RMN- ^{13}C (151 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) = 173.2, 171.2 (CONH), 156.1 (OCON), 137.2 (C_{arom}), 130.0, 129.3, 127.6 (5 x CH_{arom}), 81.3 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 80.3 ($\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$), 71.5 ($\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$), 61.2 (CH_{PRO}), 54.4 (NHCH_{PHE}), 47.8 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 37.6 ($\text{CH}_{2,\text{PHE}}$), 29.9 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 29.7 ($\text{CH}_{2,\text{prop}}$), 29.0 (3 x CH_3_{Boc}), 25.4 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}$) ; ESI-SMHR : m/z calculée pour $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 400.2231, obtenue : 400.2218 et $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 422.2050, obtenue : 422.2037.

***N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-L-alanyl-D-prolyl-L-phénylalaninyl-propargylamide ou Boc-L-Ala-D-Pro-L-Phe-prop (**84**)**

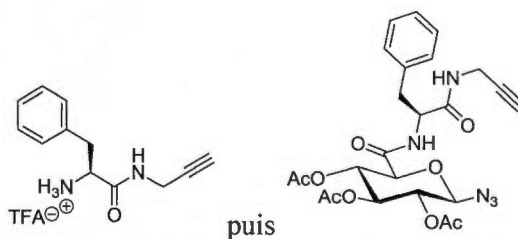


La procédure générale A est reproduite ici, mais en débutant avec le composé **82** (308 mg, 0.771 mmol) pour la première étape et Boc-L-Ala-OH (160 mg, 0.848 mmol, 1.10 éq.) pour la deuxième. Un rendement sur 2 étapes de 88% est obtenu après purification du composé **84**, soit une masse de 321 mg (0.682 mmol). R_f : 0.18 (EP/AcOEt 2 : 8) ; $[\alpha]_D^{24,5}$: -3.13 ($c=1$, MeOH) ; IR : 3301 (CH alcyne) ; RMN- ^1H (600 MHz, CDCl_3 , 22.1 °C) : δ (ppm) = 7.29 (sl, 1H, NH_{prop}), 7.25 – 7.11 (m, 5H, 5 x H_{arom}), 6.47 (d, 1H, $^3J = 8.06$ Hz, NH_{PHE}), 5.35 (d, 1H, $^3J = 6.42$ Hz, NH_{ALA}), 4.55 (dd_{app}, 1H, CH_{PHE}), 4.35 – 4.28 (m, 1H, CH_{ALA}), 4.13 – 4.07 (m, 1H, CH_{PRO}), 4.04 – 3.89 (m, 2H, $\text{CH}_{2,\text{prop}}$), 3.69 – 3.63, 3.43 – 3.37 (2 x m, 2 x 1H,

NCH₂CH₂CH₂CH), 3.19 – 3.09 (m, 2H, CH_{2,PHE}), 2.21 (s, 1H, CH_{prop}), 2.11 – 1.97 (m, 2H, NCH₂CH₂CH₂CH), 1.95 – 1.82 (m, 2H, NCH₂CH₂CH₂CH), 1.36 (s, 9H 3 x CH_{3,Boc}), 1.23 (d, 3H, ³J = 6.6 Hz, CH_{3,ALA}) ; **RMN-¹³C (151 MHz, CDCl₃)** : δ (ppm) = 173.3, 172.2, 171.2 (CONH), 155.8 (OCONH), 137.5 (C_{arom}), 129.9, 129.7, 127.4 (5 x CH_{arom}), 80.6 (C(CH₃)₃), 80.4 (CH₂C≡CH), 72.0 (CH₂C≡CH), 61.7 (CH_{PRO}), 55.1 (CH_{PHE}), 48.9 (CH_{ALA}), 48.0 (NCH₂CH₂CH₂CH), 37.3 (CH_{2,PHE}), 30.0 (CH_{2,prop}), 29.1 (3 x CH_{3,Boc} et NCH₂CH₂CH₂CH), 25.7 (NCH₂CH₂CH₂CH), 18.7 (CH_{3,ALA}) ; **ESI-SMHR** : m/z calculée pour C₂₅H₃₄N₄O₅ [M+H]⁺ : 471.2602, obtenue : 471.2602 et [M+Na]⁺ : 493.2421, obtenue : 493.2420.

7.2.3 Couplages du sucre et des peptides et cyclisations par *click chemistry*

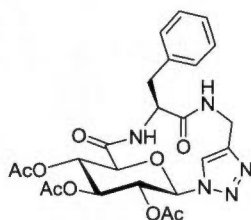
N-(L-Phe-propargylamide)-2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azido-1-désoxy-β-D-glucopyranuramide (86)



La procédure générale A est reproduite ici, mais en débutant avec le composé **66** (121 mg, 0.400 mmol) pour la première étape et **61** (152 mg, 0.440 mmol, 1.10 éq.) pour la deuxième. Le composé **86** est obtenu après deux purifications utilisant des colonnes de silice (DCM/MeOH de 100 : 0 à 97,5 : 2,5 puis EP/AcOEt de 100 : 0 à 70 : 30). Le composé est laissé à -15 °C dans un mélange d'éther de pétrole et d'éthanol dans le but de faire cristalliser. Un rendement de 22% est calculé (46.5 mg, 0.0880 mmol). **R_f** : 0.50 (DCM/MeOH 95 : 5) ; **T_{fus}** : 147 à 148 °C (EP/Éthanol) ; **IR** : 3286 (CH alcyne), 2120 (N₃) ; **RMN-¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆, 22.6 °C)** : δ (ppm) = 7.29 – 7.15 (m, 5H, 5 x H_{arom}), 6.91 (d, 1H, ³J = 7.54 Hz, NH_{prop}), 5.70 (t, 1H, ³J = 5.04 Hz, NH_{PHE}), 5.20 (t, 1H, ³J_{2,3} = ³J_{3,4} = 9.51 Hz, H₃), 5.00 (t, 1H, ³J_{3,4} = ³J_{4,5} = 9.74 Hz, H₄), 4.84 (t, 1H, ³J_{1,2} = ³J_{2,3} = 9.20 Hz, H₂), 4.63 (d, 1H, ³J_{1,2} = 8.89 Hz, H₁), 4.42 (dd_{app}, 1H, CH_{PHE}), 3.94 (d, 1H, ³J_{4,5} = 9.99 Hz, H₅),

3.92 – 3.83 (m, 2H, $\text{CH}_{2,\text{prop}}$), 3.13 – 2.93 (m, 2H, $\text{CH}_{2,\text{PHE}}$), 2.12 (t, 1H, $^3J = 2.45$ Hz, CH_{prop}), 2.02, 1.99, 1.967 (3 x s, 3 x 3H, 3 x COCH_3) ; **RMN- ^{13}C (151 MHz, DMSO- d_6)** : δ (ppm) = 170.5, 170.3, 170.2, 169.9 (3 x OCOCH_3 , NHCO), 166.5 (C_6), 136.7 (C_{arom}), 130.0, 129.6, 128.0 (5 x CH_{arom}), 88.6 (C_1), 79.4 ($\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$), 74.8 (C_5), 72.5 ($\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$), 72.4 (C_3), 71.1 (C_2), 69.7 (C_4), 55.0 (CH_{PHE}), 38.7 ($\text{CH}_{2,\text{PHE}}$), 29.9 ($\text{CH}_{2,\text{prop}}$), 21.3, 21.2 (3 x COCH_3) ; **ESI-SMHR** : m/z calculée pour $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_9$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 530.1882, obtenue : 530.1892 et $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 552.1701, obtenue : 552.1710.

Composé 95



Le composé pré-cyclique **86** (10 mg, 0.019 mmol) est dissout dans 0.15 mL de MeOH et 38 μL d'eau (0.10M) dans un vial à micro-ondes (0.5 – 2 mL). Le CuSO_4 pentahydraté (1.4 mg, 0.0057 mmol, 0.30 éq.) et l'ascorbate de Na (2.2 mg, 0.011 mmol, 0.60 éq.) sont ajoutés puis le vial est bouché et le micro-ondes est activé dans les conditions déjà mentionnées. Une fois le vial refroidi, une fraction du mélange réactionnel est envoyée pour une analyse CL-SM. **ESI-SMHR** : m/z calculée pour $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_9$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 530.1882, obtenue : N/D ; **CL-SM** : t (min) = 9.07 (100, dimère cyclique), 9.33 (2.09, tétramère).

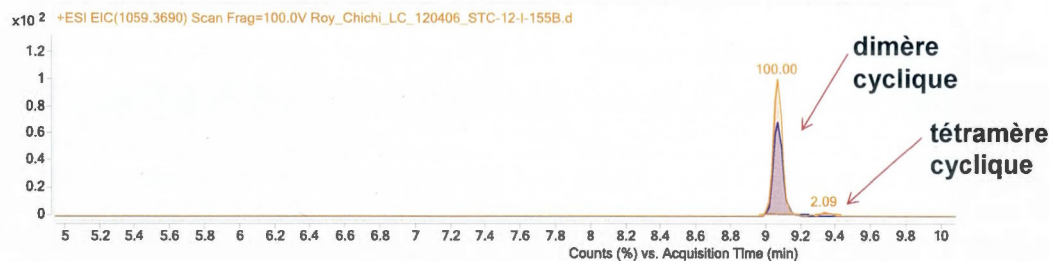
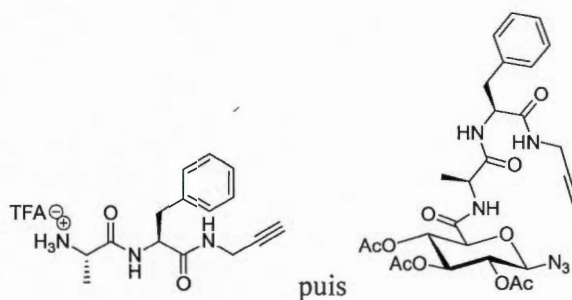


Figure 7.1

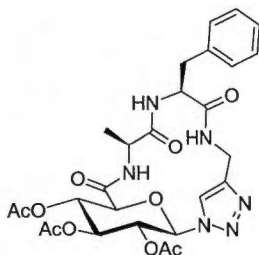
Chromatogramme CL-SM de la cyclisation de **86** (**95**).

***N*-(L-Ala-L-Phe-propargylamide)-2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azido-1-désoxy-β-D-glucopyranuramide (87)**



La procédure générale A est reproduite ici, mais en débutant avec le composé **68** (123 mg, 0.329 mmol) pour la première étape et **61** (125 mg, 0.362 mmol, 1.10 éq.) pour la deuxième. Le composé **87** est obtenu après purification sur silice (DCM 100%). Un rendement (non optimisé) sur 2 étapes de 39% est obtenu, soit une masse de 76.9 mg (0.128 mmol). R_f : 0.29 (DCM/MeOH 95 : 5) ; $T^\circ_{\text{décomposition}}$: 145 °C (non cristallisé) ; **IR** : 3280 (CH alcyne), 2115 (N_3) ; **RMN- 1H** (600 MHz, $DMSO-d_6$, 22.9 °C): δ (ppm) = 8.44 (t, 1H, $^3J = 5.41$ Hz, NH_{prop}), 8.17 – 8.10 (m, 2H, NH_{PHE} , NH_{ALA}), 7.26 – 7.14 (m, 5H, 5 x H_{arom}), 5.29 (t, 1H, $^3J_{2,3} = ^3J_{3,4} = 9.60$ Hz, H_3), 5.14 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 8.88$ Hz, H_1), 5.12 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.74$ Hz, H_4), 4.89 (t, 1H, $^3J_{1,2} = ^3J_{2,3} = 9.26$ Hz, H_2), 4.47 – 4.41 (m, 1H, CH_{PHE}), 4.30 – 4.25 (m, 1H, CH_{ALA}), 4.24 (d, 1H, $^3J_{4,5} = 9.93$ Hz, H_5), 3.87 – 3.80 (m, 2H, $CH_{2,\text{prop}}$), 3.11 (t, 1H, $^3J = 2.20$ Hz, CH_{prop}), 2.96 – 2.75 (m, 2H, $CH_{2,\text{PHE}}$), 2.02, 1.95, 1.86 (3 x s, 3 x H, 3 x $COCH_3$), 1.14 (d, 3H, $^3J = 6.97$ Hz, $CH_{3,\text{ALA}}$) ; **RMN- ^{13}C** (151 MHz, $DMSO-d_6$): δ (ppm) = 171.8, 170.8, 169.9, 169.5, 169.1 (3 x $COCH_3$, 2 x $CONH$), 165.4 (C_6), 137.8 (C_{arom}), 129.5, 128.4, 126.7 (5 x CH_{arom}), 86.9 (C_1), 81.2 ($CH_2C\equiv CH$), 74.4 (C_5), 73.5 ($CH_2C\equiv CH$), 71.9 (C_3), 70.3 (C_2), 69.3 (C_4), 54.2 (CH_{PHE}), 48.2 (CH_{ALA}), 38.0 ($CH_{2,\text{PHE}}$), 28.3 ($CH_{2,\text{prop}}$), 20.6 (3 x $COCH_3$), 18.6 ($CH_{3,\text{ALA}}$) ; **ESI-SMHR** : m/z calculée pour $C_{27}H_{32}N_6O_{10}$ $[M+H]^+$: 601.2253, obtenue : 601.2252 et $[M+Na]^+$: 623.2072, obtenue : 623.2071.

Composé 97



Premier essai : 97a. Le composé 87 (55.0 mg, 0.0916 mmol) est dissout dans 0.92 mL de DMF (0.10M) dans un vial à micro-ondes (0.5 – 2 mL). Le CuSO_4 pentahydraté (11.4 mg, 0.0458 mmol, 0.500 éq.) et l'ascorbate de Na (3.01 mg, 0.0152 mmol, 0,166 éq.) sont ajoutés puis le vial est bouché et le micro-ondes est activé dans les conditions déjà mentionnées. Une fois le vial refroidi, le mélange réactionnel est transféré dans une ampoule à décanter avec AcOEt. Il est lavé avec une solution de EDTA saturée. La phase aqueuse est extraite avec DCM puis mise de côté. La phase organique est lavée avec AcOEt, DCM puis une solution aqueuse saturée de NaCl. La phase organique est aussi mise de côté. Après 18h, un précipité est observé dans chacune des phases. Ils sont filtrés, isolés, séchés et analysés par RMN puis un échantillon de chacun est envoyé à la masse. Au total, 37 mg sont isolés (voir les résultats de CL-SM insérés ci-dessous).

1^{er} composé : 97a-1. RMN- ^1H (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, 23°C): δ (ppm) = 8.52 (t, 1H, $^3J = 5.13$ Hz, $\text{NH}_{\text{triazole}}$), 8.14 – 8.03 (m, 2H, NH_{ALA} et NH_{PHE}), 8.03 – 8.00 (s, 1H, $\text{CH}_{\text{triazole}}$), 7.22 – 7.08 (m, 5H, 5 x H_{arom}), 6.30 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 9.32$ Hz, H_1), 5.65 (t, 1H, $^3J_{1,2} = ^3J_{2,3} = 9.32$ Hz, H_2), 5.53 (t, 1H, $^3J_{2,3} = ^3J_{3,4} = 9.52$ Hz, H_3), 5.32 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.68$ Hz, H_4), 4.48 (d, 1H, $^3J_{4,5} = 9.68$ Hz, H_5), 4.45 – 4.41 (m, 1H, CH_{PHE}), 4.41 – 4.35 (m, 1H, $\text{CH}_{2,\text{triazole}}$), 4.29 – 4.23 (m, 1H, CH_{ALA}), 4.22 – 4.15 (m, 1H, $\text{CH}_{2,\text{triazole}}$), 2.94 – 2.73 (m, 2H, $\text{CH}_{2,\text{PHE}}$), 1.94, 1.88, 1.76 (3 x s, 3 x 3H, 3 x COCH_3), 1.12 (d, 3H, $^3J = 6.9$ Hz, CH_3_{ALA}) ; RMN- ^{13}C (151 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm) = 171.3, 170.6, 169.6, 168.8, 168.7 (3 x COCH_3 , 2 x CONH), 164.7 (C_6), 145.2 ($\text{C}_{\text{triazole}}$), 137.4 (C_{arom}), 129.1, 128.0, 126.2 (5 x CH_{arom}), 122.0 ($\text{CH}_{\text{triazole}}$), 83.7 (C_1), 74.5 (C_5), 71.9, 69.6, 68.7 (C_2 , C_3 , C_4), 53.8 (CH_{PHE}), 47.9 (CH_{ALA}), 37.6

(CH_{2,triazole}), 34.0 (CH_{2,PHE}), 20.3, 20.2, 19.9 (3 x COCH₃), 18.2 (CH_{3,ALA}) ; **ESI-SMHR** : m/z calculée pour C₂₇H₃₂N₆O₁₀ [M+H]⁺ : 601.2253, obtenue : 601.2274 ; **CL-SM** : t (min) = 8.52 (5.86, monomère cyclique), 8.81 (100, dimère cyclique), 9.07 (63.49, tétramère), 9.20 (5.46, pentamère cyclique).

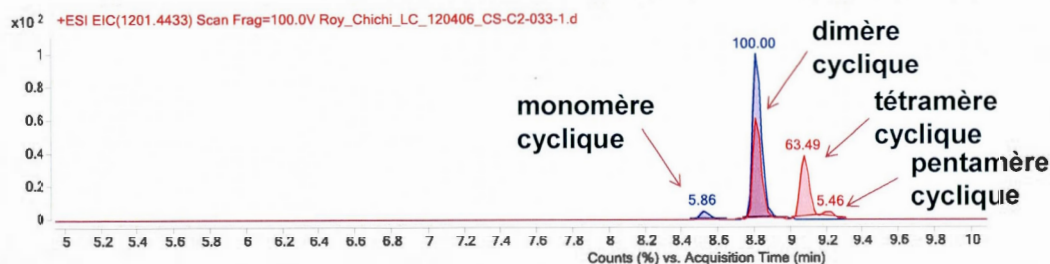


Figure 7.2 Chromatogramme CL-SM de la première cyclisation de 87, premier produit (97a-1).

2^e composé : 97a-2. RMN-¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆, 23°C): δ (ppm) = 8.49 (t, 1H, ³J = 4.45 Hz, NH_{triazole}), 8.33 (s, 1H, CH_{triazole}), 8.32 – 8.34 (m, 1H, NH_{PHE}), 7.56 (d, 1H, ³J = 7.91 Hz, NH_{ALA}), 7.24 – 7.11 (m, 5H, 5 x H_{arom}), 6.33 (d, 1H, ³J_{1,2} = 9.18 Hz, H₁), 5.68 (t, 1H, ³J_{1,2} = ³J_{2,3} = 9.53 Hz, H₂), 5.52 (t, 1H, ³J_{2,3} = ³J_{3,4} = 9.48 Hz, H₃), 5.32 (t, 1H, ³J_{3,4} = ³J_{4,5} = 9.78 Hz, H₄), 4.49 – 4.44 (m, 1H, CH_{2,triazole}), 4.42 (d, 1H, ³J_{4,5} = 9.68 Hz, H₅), 4.41 – 4.37 (m, 1H, CH_{PHE}), 4.30 – 4.24 (m, 1H, CH_{ALA}), 4.13 – 4.07 (m, 1H, CH_{2,triazole}), 2.93 – 2.67 (m, 2H, CH_{2,PHE}), 1.96, 1.95, 1.78 (3 x s, 3 x 3H, 3 x COCH₃), 1.13 (d, 3H, ³J = 6.90 Hz, CH_{3,ALA}) ; **RMN-¹³C (151 MHz, DMSO-*d*₆):** δ (ppm) = 171.6, 171.3 (2 x CONH), 169.8, 169.4, 168.9 (3 x COCH₃), 165.1 (C₆), 144.5 (C_{triazole}), 138.3 (C_{arom}), 129.4, 128.3, 126.6 (5 x CH_{arom}), 123.0 (CH_{triazole}), 84.0 (C₁), 75.1 (C₅), 71.9, 70.2, 69.3 (C₂, C₃, C₄), 54.1 (CH_{PHE}), 47.5 (CH_{ALA}), 38.0 (CH_{2,triazole}), 34.7 (CH_{2,PHE}), 20.7, 20.6, 20.3 (3 x COCH₃), 19.2 (CH_{3,ALA}) ; **ESI-SMHR** : m/z calculée pour C₂₇H₃₂N₆O₁₀ [M+H]⁺ : 601.2253, obtenue : 601.2273 ; **CL-SM** : t (min) = 8.52 (10.39, monomère cyclique), 8.81 (100, dimère cyclique), 9.08 (1.34, tétramère).

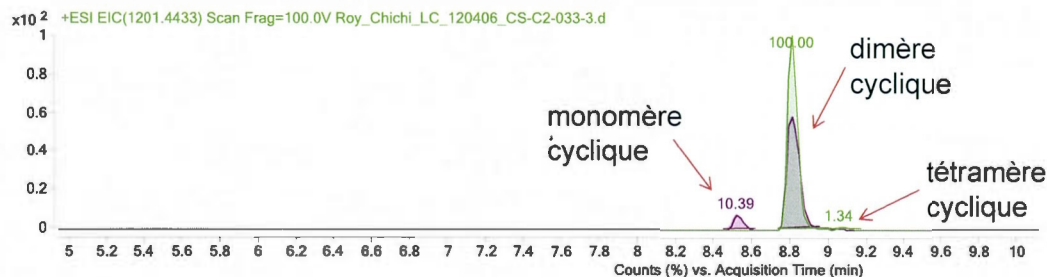


Figure 7.3 Chromatogramme CL-SM de la première cyclisation de **87**, deuxième produit (**97a-2**).

Deuxième essai : 97b. Procédure générale B (pour les prochaines *click*). Le composé **87** (2.0 mg, 0.0033 mmol) est dissout dans 0.33 mL de DMF (0.010M) dans un vial à micro-ondes (0.5 – 2 mL). Le CuSO₄ pentahydraté (0.42 mg, 0.0017 mmol, 0.50 éq.) et l'ascorbate de Na (0.11 mg, 0.00056 mmol, 0,17 éq.) sont ajoutés puis le vial est bouché et le micro-ondes est activé dans les conditions déjà mentionnées. Une fois le vial refroidi, une fraction du mélange réactionnel est envoyée pour une analyse CL-SM. **ESI-SMHR** : m/z calculée pour C₂₇H₃₂N₆O₁₀ [M+H]⁺ : 601.2253, obtenue : 601.2242 ; **CL-SM** : t (min) = 7.49 (2921280, monomère linéaire), 8.02 (2821280, dimère), 8.27 (15606934, monomère cyclique), 8.61 (5428955, dimère cyclique), 8.81 (402224, trimère).

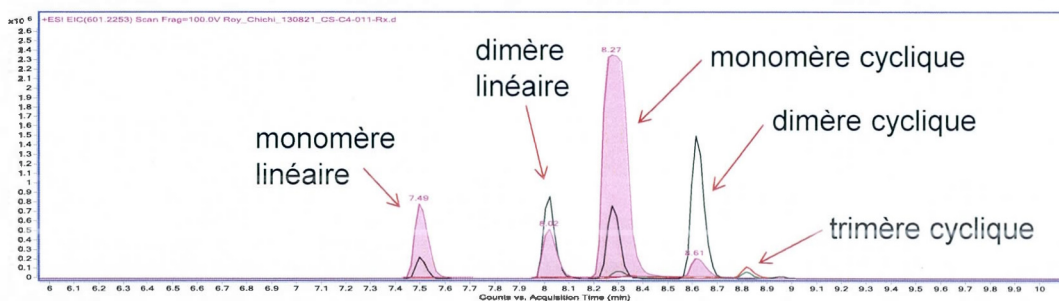


Figure 7.4 Chromatogramme CL-SM de la deuxième cyclisation de **87** (**97b**).

Troisième essai : 97c. La procédure générale B est répétée ici, en démarrant avec le même substrat mais en utilisant une concentration réactionnelle de 0.0010M (vial de 2 – 5 mL). **ESI-SMHR** : m/z calculée pour C₂₇H₃₂N₆O₁₀ [M+H]⁺ : 601.2253, obtenue : 601.2254 ;

CL-SM : t (min) = 7.51 (2652672, monomère linéaire), 8.03 (435143, dimère linéaire), 8.30 (10625649, monomère cyclique), 8.64 (609796, dimère cyclique), 8.83 (61642, trimère).

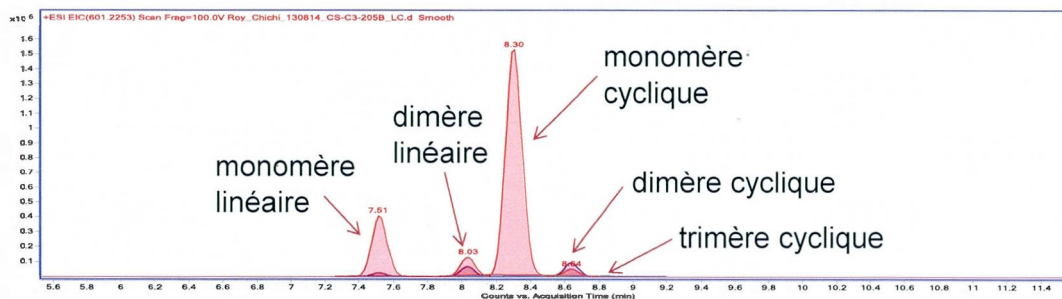


Figure 7.5 Chromatogramme CL-SM de la troisième cyclisation de 87 (97c).

Quatrième essai : 97d. La procédure générale B est répétée ici, en démarrant avec le même substrat mais en utilisant une concentration réactionnelle de 0.00010M (vial de 10 – 20 mL). **ESI-SMHR** : m/z calculée pour $C_{27}H_{32}N_6O_{10}$ $[M+H]^+$: 601.2253, obtenue : 601.2252 ; **CL-SM** : t (min) = 7.51 (111817, monomère linéaire), 8.03 (1414, dimère linéaire), 8.30 (33200930, monomère cyclique), 8.64 (1649, dimère cyclique).

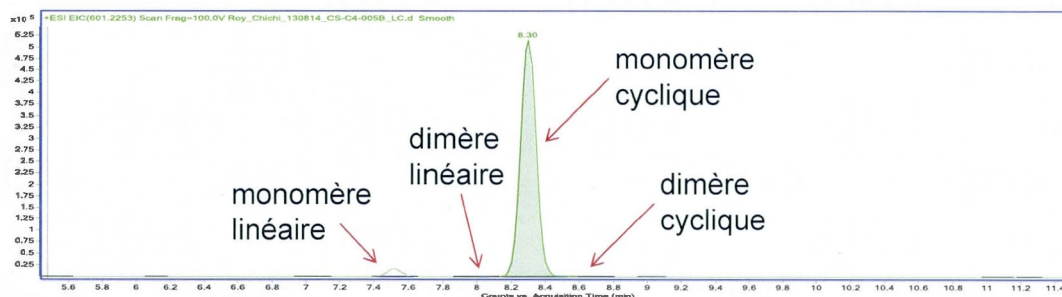
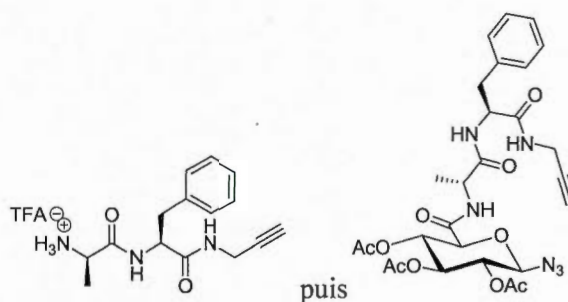


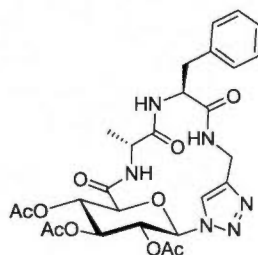
Figure 7.6 Chromatogramme CL-SM de la quatrième cyclisation de 87 (97d).

***N*-(D-Ala-L-Phe-propargylamide)-2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azido-1-désoxy-β-D-glucopyranuramide (89)**



La procédure générale A est reproduite ici, mais en débutant avec le composé **72** (134 mg, 0.359 mmol) pour la première étape et **61** (136 mg, 0.395 mmol, 1.10 éq.) pour la deuxième. Le composé **89** est obtenu après purification sur silice (DCM/MEOH de 100 : 0 à 96 : 4). Un rendement (non optimisé) sur 2 étapes de 75% est obtenu, soit une masse de 162 mg (0.269 mmol). R_f : 0.36 (DCM/MeOH 95 : 5) ; $T^\circ_{\text{décomposition}}$: 145 °C (non cristallisé) ; IR : 3275 (alcyne), 2121 (N_3) ; RMN- 1H (600 MHz, DMSO- d_6 , 22.5 °C) : δ (ppm) = 8.51 (t, 1H, $^3J = 5.47$ Hz, NH_{prop}), 8.34 (d, 1H, $^3J = 8.80$ Hz, NH_{PHE}), 8.22 (d, 1H $^3J = 7.25$ Hz, NH_{ALA}), 7.28 – 7.14 (m, 5H, 5 x H_{arom}), 5.28 (t, 1H, $^3J_{2,3} = ^3J_{3,4} = 9.59$ Hz, H_3), 5.15 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 8.86$ Hz, H_1), 5.08 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.74$ Hz, H_4), 4.83 (t, 1H, $^3J_{1,2} = ^3J_{2,3} = 9.26$ Hz, H_2), 4.54 – 4.47 (m, 1H, CH_{PHE}), 4.28 (d, 1H, $^3J_{4,5} = 9.95$ Hz, H_5), 4.27 – 4.21 (m, 1H, CH_{ALA}), 4.00 – 3.77 (m, 2H, $CH_{2,\text{prop}}$), 3.14 – 3.11 (m, 1H, CH_{prop}), 3.05 – 3.01 (m, 1H, $CH_{2,\text{PHE}}$), 2.74 – 2.69 (m, 1H, $CH_{2,\text{PHE}}$), 2.04, 1.95, 1.91 (3 x s, 3 x 3H, 3 x $COCH_3$), 0.89 (d, 3H, $^3J = 6.97$ Hz, $CH_{3,\text{ALA}}$) ; RMN- ^{13}C (151 MHz, DMSO- d_6) : δ (ppm) = 171.3, 170.7 (2 x CONH), 169.6, 169.1, 168.7 (3 x $COCH_3$), 164.7 (C_6), 137.7 (C_{arom}), 129.2, 128.0, 126.3 (5 x CH_{arom}), 86.6 (C_1), 80.9 ($CH_2C\equiv CH$), 73.6 (C_5), 73.2 ($CH_2C\equiv CH$), 71.6 (C_3), 69.9, 68.9 (C_2 , C_4), 53.7 (CH_{PHE}), 48.1 (CH_{ALA}), 37.7 ($CH_{2,\text{PHE}}$), 28.0 ($CH_{2,\text{prop}}$), 20.3 (3 x $COCH_3$), 18.2 ($CH_{3,\text{ALA}}$) ; ESI-SMHR : m/z calculée pour $C_{27}H_{32}N_6O_{10}$ $[M+H]^+$: 601.2253, obtenue : 601.2243 et $[M+Na]^+$: 623.2072, obtenue : 623.2061.

Composé 100



Premier essai : 100a. La procédure générale B est répétée ici, mais en utilisant une concentration réactionnelle de 0.0010M et en démarrant avec 2.0 mg du substrat **89** (vial de 2 – 5 mL). **ESI-SMHR** : m/z calculée pour $C_{27}H_{32}N_6O_{10}$ $[M+H]^+$: 601.2253, obtenue : 601.2245 ; **CL-SM** : t (min) = 7.41 (1418351, monomère linéaire), 8.12 (457749, dimère linéaire), 8.34 (8714974, monomère cyclique), 8.64 (195137, trimère), 8.76 (27953, dimère cyclique), 8.96 (16167, tétramère).

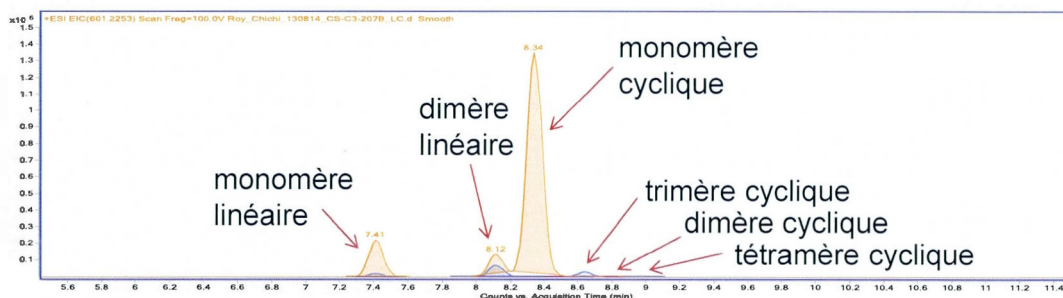


Figure 7.7 Chromatogramme CL-SM de la première cyclisation de **89** (**100a**).

Deuxième essai : 100b. La procédure générale B est répétée ici, mais en utilisant une concentration réactionnelle de 0.00010M et en démarrant avec 2.0 mg du substrat **89** (vial de 10 – 20 vial). **ESI-SMHR** : m/z calculée pour $C_{27}H_{32}N_6O_{10}$ $[M+H]^+$: 601.2253, obtenue : 601.2246 ; **CL-SM** : t (min) = 8.11 (1665, dimère linéaire), 8.33 (2862273, monomère cyclique), 8.77 (14891, dimère cyclique).

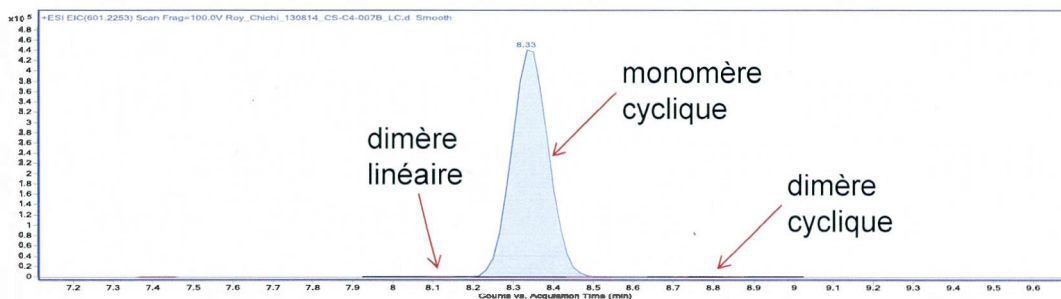
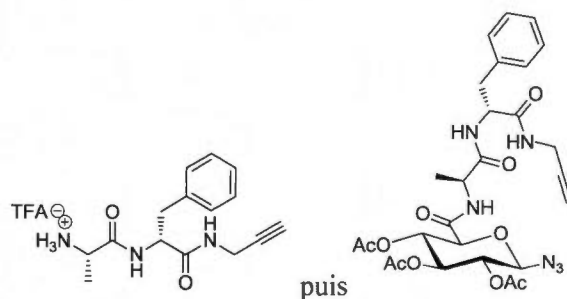


Figure 7.8 Chromatogramme CL-SM de la deuxième cyclisation de **89** (**100b**).

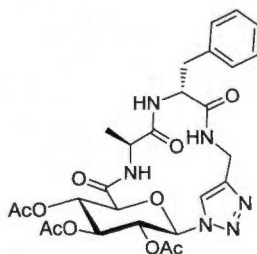
***N*-(L-Ala-D-Phe-propargylamide)-2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azido-1-désoxy- β -D-glucopyranuramide (**90**)**



La procédure générale A est reproduite ici, mais en débutant avec le composé **76** (142 mg, 0.380 mmol) pour la première étape et **61** (144 mg, 0.418 mmol, 1.10 éq.) pour la deuxième. Le composé **90** est obtenu après purification sur silice (DCM/MeOH 100 : 0 à 98 : 2). Un rendement (non optimisé) sur 2 étapes de 29% est obtenu, soit une masse de 66.1 mg (0.110 mmol). R_f : 0.34 (DCM/MeOH 95 : 5) ; $T^\circ_{\text{décomposition}}$: 190 °C (non cristallisé) ; IR : 3280 (alcyne), 2125 (N_3) ; RMN- 1H (600 MHz, DMSO- d_6 , 23°C) : δ (ppm) = 8.46 (t, 1H, 3J = 5.49 Hz, NH_{prop}), 8.39 (d, 1H, 3J = 8.78 Hz, NH_{PHE}), 8.13 (d, 1H, 3J = 7.51 Hz, NH_{ALA}), 7.27 – 7.15 (m, 5H, 5 x H_{arom}), 5.29 (t, 1H, $^3J_{2,3}$ = $^3J_{3,4}$ = 9.61 Hz, H_3), 5.13 (d, 1H, $^3J_{1,2}$ = 8.89 Hz, H_1), 5.12 (t, 1H, $^3J_{3,4}$ = $^3J_{4,5}$ = 9.25 Hz, H_4), 4.83 (t, 1H, $^3J_{1,2}$ = $^3J_{2,3}$ = 9.26 Hz, H_2), 4.51 – 4.45 (m, 1H, CH_{PHE}), 4.31 – 4.25 (m, 1H, CH_{ALA}), 4.24 (d, 1H, $^3J_{4,5}$ = 9.99 Hz, H_5), 3.95 – 3.79 (m, 2H, $CH_{2,\text{prop}}$), 3.12 (t, 1H, 3J = 2.32 Hz, CH_{prop}), 3.05 – 3.00 (m, 1H, $CH_{2,\text{PHE}}$), 2.73 – 2.67 (m, 1H, $CH_{2,\text{PHE}}$), 2.04, 1.95, 1.89 (3 x s, 3 x 3H, 3 x $COCH_3$), 0.89 (d, 3H, 3J = 6.95 Hz,

$CH_{3,ALA}$) ; RMN- ^{13}C (151 MHz, DMSO- d_6) : δ (ppm) = 171.4, 170.7 (2 x CONH), 169.5, 169.1, 168.8 (3 x $COCH_3$), 165.0 (C_6), 137.7 (C_{arom}), 129.2, 128.0, 126.3 (5 x CH_{arom}), 86.6 (C_1), 80.9 ($CH_2C\equiv CH$), 74.0 (C_5), 73.2 ($CH_2C\equiv CH$), 71.5 (C_3), 69.9 (C_4), 68.9 (C_2), 53.6 (CH_{PHE}), 47.9 (CH_{ALA}), 37.7 ($CH_{2,PHE}$), 28.0 ($CH_{2,prop}$), 20.3, 20.3, 20.3 (3 x $COCH_3$), 18.3 ($CH_{3,ALA}$) ; ESI-SMHR : m/z calculée pour $C_{27}H_{32}N_6O_{10}$ $[M+H]^+$: 601.2253, obtenue : 601.2243 et $[M+Na]^+$: 623.2072, obtenue : 623.2060.

Composé 101



Premier essai : 101a. La procédure générale B est répétée ici, mais utilisant une concentration réactionnelle de 0.0010M et en démarrant avec 2.0 mg du substrat **90** (vial de 2 – 5 mL). ESI-SMHR : m/z calculée pour $C_{27}H_{32}N_6O_{10}$ $[M+H]^+$: 601.2253, obtenue : 601.2261 ; CL-SM : t (min) = 7.29 (2150505, monomère linéaire), 8.24 (677961, dimère linéaire), 8.38 (8901154, monomère cyclique), 8.66 (177205, trimère), 8.83 (24203, dimère cyclique), 9.05 (24641, tétramère).

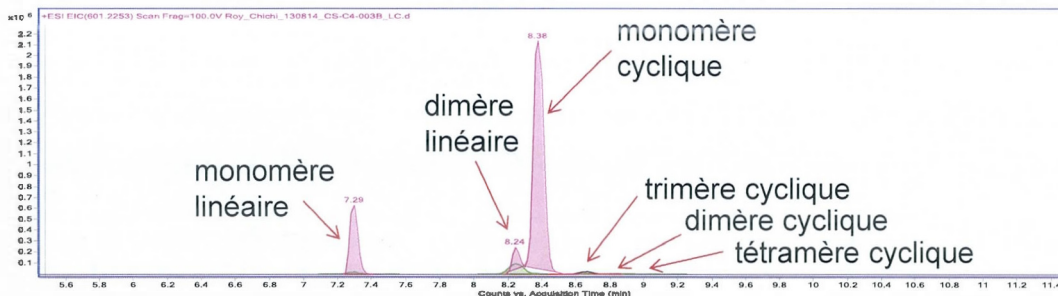


Figure 7.9

Chromatogramme CL-SM de la première cyclisation de **90** (**101a**).

Deuxième essai : 101b. La procédure générale B est répétée ici, mais en utilisant une concentration réactionnelle de 0.00010M et en démarrant avec 2.0 mg du substrat **90** (vial de 10 – 20 mL). **ESI-SMHR** : m/z calculée pour $C_{27}H_{32}N_6O_{10}$ $[M+H]^+$: 601.2253, obtenue : 601.2243 ; **CL-SM** : t (min) = 7.29 (45, monomère linéaire), 8.37 (2264962, monomère cyclique), 8.81 (461, dimère cyclique).

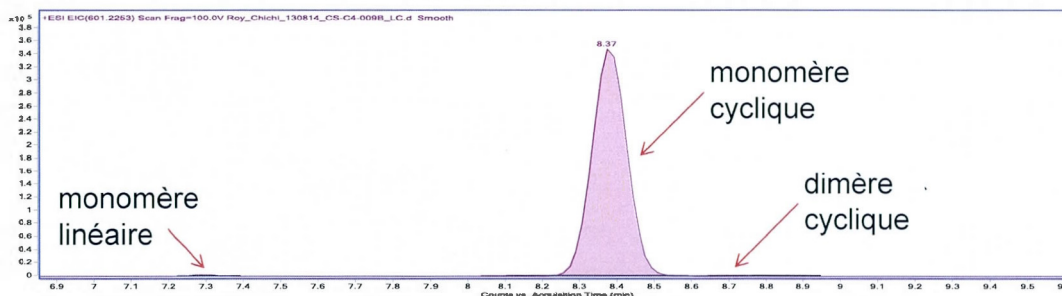
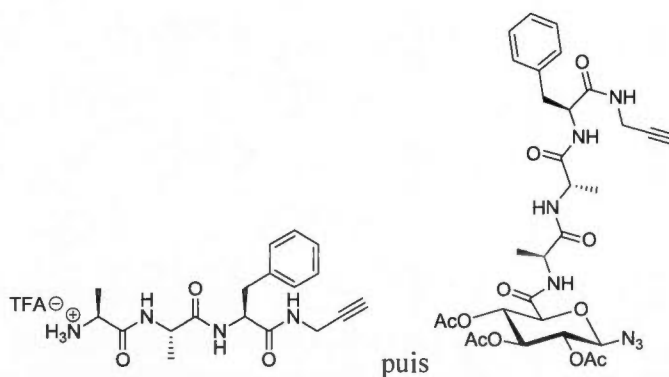


Figure 7.10 Chromatogramme CL-SM de la deuxième cyclisation de **90** (**101b**).

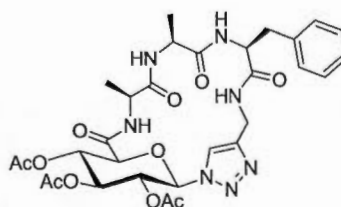
***N*-(L-Ala-L-Ala-L-Phe-propargylamide)-2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azido-1-désoxy-β-D-glucupyruranamide (**88**)**



La procédure générale A est reproduite ici, mais en débutant avec le composé **70** (72.9 mg, 0.164 mmol) pour la première étape et **61** (60.8 mg, 0.176 mmol, 1.10 éq.) pour la deuxième. Le composé **88** est obtenu après purification sur silice (DCM/MeOH 100 : 0 à 95 : 5). Un rendement (non optimisé) sur 2 étapes de 58% est obtenu, soit une masse de 63.9 mg (0.0951 mmol). R_f : 0.21 (DCM/MeOH 95 : 5) ; $T^{\circ}_{\text{décomposition}}$: 180 °C (non cristallisé) ; **IR** :

3275 (CH alcyne), 2125 (N₃) ; **RMN-¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆, 22.6°C)** : δ (ppm) = 8.42 (t, 1H, ³*J* = 5.38 Hz, NH_{prop}), 8.25 (d, 1H, ³*J* = 7.67 Hz, NH_{ALA}), 8.08 (d, 1H, ³*J* = 7.35 Hz, NH_{ALA}), 7.88 (d, 1H ³*J* = 8.16 Hz, NH_{PHE}), 7.27 7.15 (m, 5H, 5 x *H*_{arom}), 5.30 (t, 1H, ³*J*_{1,2} = ³*J*_{2,3} = 9.61 Hz, *H*₂), 5.18 – 5.11 (m, 2H, *H*₁, *H*₄), 4.90 (t, 1H, ³*J*_{2,3} = ³*J*_{3,4} = 9.27 Hz, *H*₃), 4.44 (dd_{app}, 1H, CH_{PHE}), 4.34 – 4.27 (m, 1H, CH_{ALA}), 4.25 (d, 1H, ³*J*_{4,5} = 9.95 Hz, *H*₅), 4.23 – 4.18 (m, 1H, CH_{ALA}), 3.88 – 3.81 (m, 2H, CH_{2,prop}), 3.13 (t, 1H, ³*J* = 2.14 Hz, CH_{prop}), 2.98 – 2.92, 2.83 – 2.77 (2 x m, 2 x 1H, CH_{2,PHE}), 2.05, 1.94, 1.91 (3 x s, 3 x 3H, 3 x COCH₃), 1.16, 1.14 (2 x d, 2 x 3H, ³*J*₁ = 7.03, ³*J*₂ = 7.10 Hz, 2 x CH_{3,ALA}) ; **RMN-¹³C (151 MHz, DMSO-*d*₆)** : δ (ppm) = 171.7, 171.3, 170.5, 169.5, 169.1, 168.8 (3 x COCH₃, 3 x CONH), 165.0 (C₆), 137.4 (C_{arom}), 129.2, 128.1, 126.3 (5 x CH_{arom}), 86.5 (C₁), 80.8 (CH₂C≡CH), 74.1 (C₅), 73.2 (CH₂C≡CH), 71.6 (C₂), 69.9 (C₃), 68.9 (C₄), 53.6 (CH_{PHE}), 48.2 (CH_{ALA}), 47.7 (CH_{ALA}), 37.6 (CH_{2,PHE}), 28.0 (CH_{2,prop}), 20.3, 20.3 (3 x COCH₃), 18.2, 18.0 (2 x CH_{3,ALA}) ; **ESI-SMHR** : *m/z* calculée pour C₃₀H₃₇N₇O₁₁ [M+H]⁺ : 672.2624, obtenue : 672.2614.

Composé 99



La procédure générale B est répétée ici, en utilisant une concentration réactionnelle de 0.010M mais en démarrant avec 2.0 mg du substrat **88**. **ESI-SMHR** : *m/z* calculée pour C₃₀H₃₇N₇O₁₁ [M+H]⁺ : 672.2624, obtenue : 672.2639 ; **CL-SM** : *t* (min) = 7.14 (8432713, monomère linéaire), 7.58 (116630, dimère linéaire), 7.79 (2579461, dimère linéaire), 8.00 (16335716, monomère cyclique), 8.13 (637635, trimère), 8.32 (1758686, dimère cyclique), 8.52 (133477, trimère).

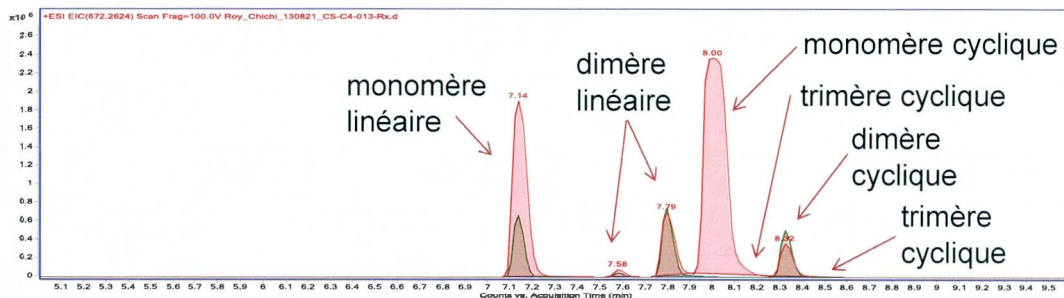
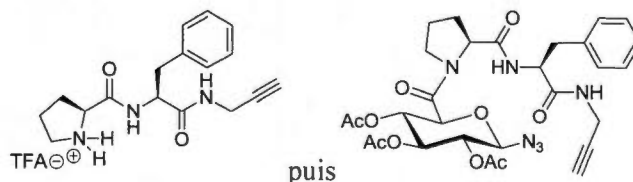


Figure 7.11 Chromatogramme CL-SM de la cyclisation de 88 (99).

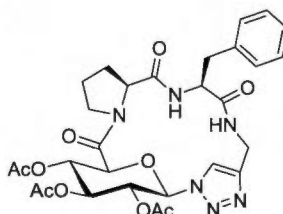
***N*-(1-Pro-L-Phe-propargylamide)-2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azido-1-désoxy- β -D-glucopyranuramide (91)**



La procédure générale A est reproduite ici, mais en débutant avec le composé **78** (192 mg, 0.481 mmol) pour la première étape et **61** (183 mg, 0.529 mmol, 1.10 éq.) pour la deuxième. Le composé **91** est obtenu après purification sur silice ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 100 : 0 à 99,25 : 0,75). Un rendement (non optimisé) sur 2 étapes de 31% est obtenu, soit une masse de 93.4 mg (0.149 mmol). R_f : 0.23 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 95 : 5) ; $T^\circ_{\text{décomposition}}$: 185 °C (non cristallisé) ; IR : 3278 (CH alcyne), 2124 (N_3) ; RMN- ^1H (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, 22.6°C) : δ (ppm) = 7.31 – 7.16 (m, 5H, 5 x H_{arom}), 6.74 (d, 1H, $^3J = 7.80$ Hz, NH_{PHE}), 6.45 (d, 1H, $^3J = 5.22$ Hz, NH_{prop}), 5.38 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.48$ Hz, H_4), 5.30 (t, 1H, $^3J_{2,3} = ^3J_{3,4} = 9.51$ Hz, H_3), 5.01 (t, 1H, $^3J_{1,2} = ^3J_{2,3} = 9.14$ Hz, H_2), 4.70 (d, 1H $^3J_{1,2} = 8.70$ Hz, H_1), 4.56 (dd_{app}, 1H, CH_{PHE}), 4.39 (t, 1H, $^3J = 6.16$ Hz, CH_{PRO}), 4.30 (d, 1H, $^3J_{4,5} = 9.49$ Hz, H_5), 4.02 – 3.91 (m, 2H, $\text{CH}_{2,\text{prop}}$), 3.74 – 3.54 (m, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 3.21 – 3.01 (m, 2H, $\text{CH}_{2,\text{PHE}}$), 2.21 (t, 1H, $^3J = 2.54$ Hz, CH_{prop}), 2.09, 2.03, 2.00 (3 x s, 3 x 3H, 3 x COCH_3), 2.06 – 2.00 (m, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 1.99 – 1.86 (m, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}$) ; RMN- ^{13}C (151 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ (ppm) = 171.3, 170.9, 170.8, 170.2, 169.8 (3 x COCH_3 , 2 x CONH), 165.7 (C_6), 137.5

(C_{arom}), 129.9, 129.2, 127.6 (5 x CH_{arom}), 89.1 (C_1), 79.9 ($CH_2C\equiv CH$), 75.5 (C_5), 72.5 (C_3), 72.2 ($CH_2C\equiv CH$), 70.9 (C_2), 69.7 (C_4), 62.0 (CH_{PRO}), 55.2 (CH_{PHE}), 48.0 ($NCH_2CH_2CH_2CH$), 38.1 ($CH_{2,PHE}$), 29.8 ($CH_{2,prop}$), 28.8 ($NCH_2CH_2CH_2CH$), 25.6 ($NCH_2CH_2CH_2CH$), 21.3, 21.2, 21.2 (3 x $COCH_3$) ; **ESI-SMHR** : m/z calculée pour $C_{29}H_{34}N_6O_{10}$ $[M+H]^+$: 627.2409, obtenue : 627.2391 et $[M+Na]^+$: 649.2229, obtenue : 649.2216.

Composé 102



Premier essai : 102a. La procédure générale B est répétée ici, en utilisant une concentration réactionnelle de 0.010M mais en démarrant avec 2.0 mg du substrat **91**. **ESI-SMHR** : m/z calculée pour $C_{29}H_{34}N_6O_{10}$ $[M+H]^+$: 627.2409, obtenue : 627.2419 ; **CL-SM** : t (min) = 7.56 (570581, monomère linéaire), 8.49 (8130320, monomère cyclique), 8.73 (213633, trimère linéaire), 8.88 (346216, dimère cyclique), 9.10 (45252, trimère cyclique).

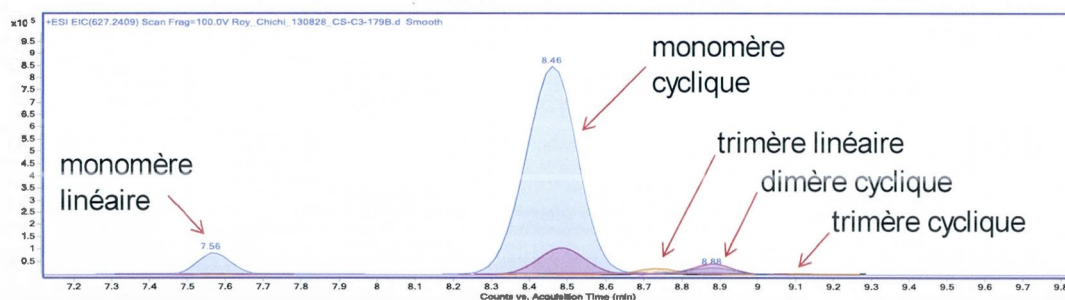


Figure 7.12 Chromatogramme CL-SM de la première cyclisation de de **91** (**102a**).

Deuxième essai : 102b. La procédure générale B est répétée ici, mais utilisant une concentration réactionnelle de 0.0010M et en démarrant avec 2.0 mg du substrat de **91** (vial 2 – 5 mL). **ESI-SMHR** : m/z calculée pour $C_{29}H_{34}N_6O_{10}$ $[M+H]^+$: 627.2409, obtenue :

627.2413 ; **CL-SM** : t (min) = 7.56 (192116, monomère cyclique), 8.48 (3881863, monomère cyclique), 8.73 (10967, trimère linéaire), 8.88 (34942, dimère cyclique), 9.10 (3303, trimère cyclique).

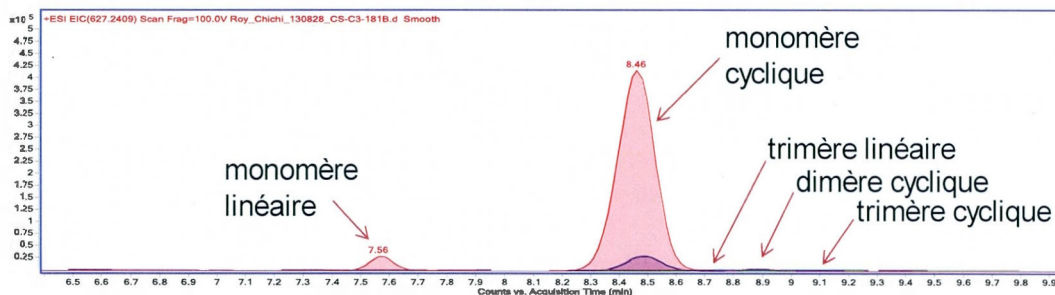
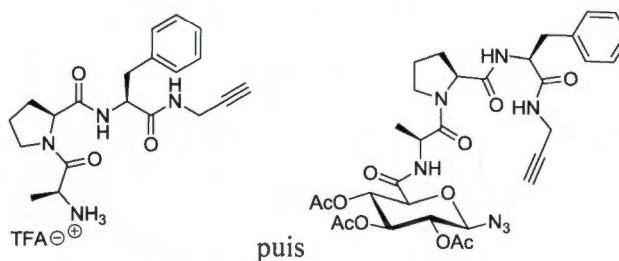


Figure 7.13 Chromatogramme CL-SM de la deuxième cyclisation de de **91** (**102b**).

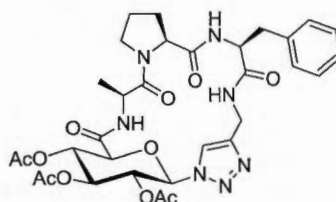
***N*-(L-Ala-L-Pro-L-Phe-propargylamide)-2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azido-1-désoxy- β -D-glucopyranuramide (**92**)**



La procédure générale A est reproduite ici, mais en débutant avec le composé **80** (221 mg, 0.470 mmol) pour la première étape et **61** (178 mg, 0.517 mmol, 1.10 éq.) pour la deuxième. Le composé **92** est obtenu après purification sur silice (DCM/MeOH 100 : 0 à 96 : 4). Un rendement (non optimisé) sur 2 étapes de 24% est obtenu, soit une masse de 78.8 mg (0.113 mmol). R_f : 0.10 (DCM/MeOH 96 : 4) ; $T^\circ_{\text{décomposition}}$: 180 °C (non cristallisé) ; **IR** : 3220 (CH alcyne), 2121 (N_3) ; **RMN- 1H** (600 MHz, $DMSO-d_6$, 22.6 °C) : δ (ppm) = 7.33 – 7.12 (m, 6H, 5 x H_{arom} , NH_{ALA}), 6.66 (t, 1H, $^3J = 5.36$ Hz, NH_{prop}), 6.26 (d, 1H, $^3J = 8.52$ Hz, NH_{PHE}), 5.28 (t, 1H, $^3J_{2,3} = ^3J_{3,4} = 9.53$ Hz, H_3), 5.13 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.78$ Hz, H_4), 4.93 (t, 1H, $^3J_{1,2} = ^3J_{2,3} = 9.20$ Hz, H_2), 4.75 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 8.89$ Hz, H_1), 4.68 (dd_{app}, 1H, CH_{PHE}), 4.58

(t, 1H, $J = 7.21$ Hz, CH_{ALA}), 4.44 – 4.40 (m, 1H, CH_{PRO}), 4.21 – 4.15 (m, 1H, $CH_{2,prop}$), 3.96 (d, 1H, $^3J_{4,5} = 10.00$ Hz, H_5), 3.90 – 3.84 (m, 1H, $CH_{2,prop}$), 3.63 – 3.57 (m, 1H, $NCH_2CH_2CH_2CH$), 3.43 – 3.34 (m, 2H, $NCH_2CH_2CH_2CH$, $CH_{2,PHE}$), 3.04 – 2.97 ($CH_{2,PHE}$), 2.29 (t, 1H, $^3J = 2.52$ Hz, CH_{prop}), 2.15 – 2.09 (m, 2H, $NCH_2CH_2CH_2CH$), 2.08, 2.06, 2.02 (3 x s, 3 x 3H, 3 x $COCH_3$), 2.01 – 1.95 (m, 2H, $NCH_2CH_2CH_2CH$), 1.04 (d, 3H, $^3J = 6.91$ Hz, $CH_{3,ALA}$) ; **RMN- ^{13}C (151 MHz, DMSO- d_6)** : δ (ppm) = 173.2, 171.1, 170.8, 170.5, 170.3, 169.8 (3 x $COCH_3$, 3 x $CONH$), 165.8 (C_6), 136.9 (C_{arom}), 130.1, 129.5, 128.0 (5 x CH_{arom}), 88.6 (C_1), 80.3 ($CH_2C\equiv CH$), 74.9 (C_5), 72.4 (C_3), 72.1 ($CH_2C\equiv CH$), 71.2 (C_2), 69.7 (C_4), 61.7 (CH_{PRO}), 53.9 (CH_{PHE}), 48.0 ($NCH_2CH_2CH_2CH$), 47.1 (CH_{ALA}), 37.7 ($CH_{2,PHE}$), 29.8 ($CH_{2,prop}$), 29.1 ($NCH_2CH_2CH_2CH$), 25.8 ($NCH_2CH_2CH_2CH$), 21.3, 21.2 (3 x $COCH_3$), 18.1 ($CH_{3,ALA}$) ; **ESI-SMHR** : m/z calculée pour $C_{32}H_{39}N_7O_{11}$ $[M+H]^+$: 698.2780, obtenue : 698.2792 et $[M+Na]^+$: 720.2600, obtenue : 720.2608.

Composé 103



La procédure générale B est répétée ici, mais en utilisant une concentration réactionnelle de 0.0010M et en démarrant avec 2.0 mg du substrat **92** (vial de 2 – 5 mL). **ESI-SMHR** : m/z calculée pour $C_{32}H_{39}N_7O_{11}$ $[M+H]^+$: 698.2780, obtenue : 698.2790 ; **CL-SM** : t (min) = 7.48 (7516105, monomère linéaire), 8.04 (1006897, dimère linéaire), 8.20 (7037469, monomère cyclique), 8.44 (286531, trimère).

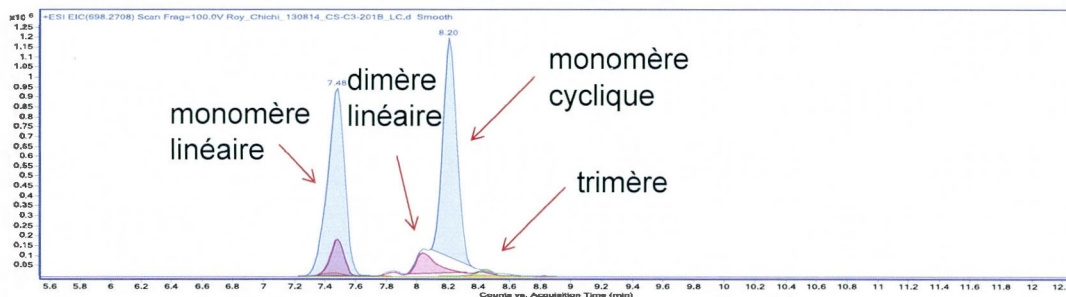
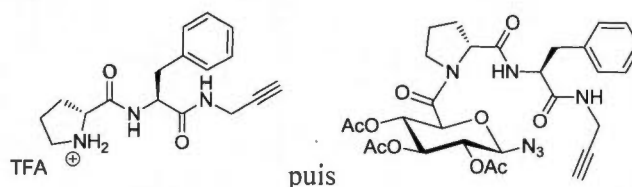


Figure 7.14 Chromatogramme CL-SM de la cyclisation de **92** (**103**).

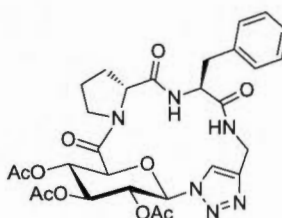
***N*-(D-Pro-L-Phe-propargylamide)-2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azido-1-désoxy- β -D-glucopyranuramide (**93**)**



La procédure générale A est reproduite ici, mais en débutant avec le composé **82** (192 mg, 0.481 mmol) pour la première étape et **61** (183 mg, 0.529 mmol, 1.10 éq.) pour la deuxième. Le composé **93** est obtenu après purification sur silice ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 100 : 0 à 99 : 1). Un rendement (non optimisé) sur 2 étapes de 38% est obtenu, soit une masse de 115 mg (0.183 mmol). R_f : 0.33 (DCM/MeOH 95 : 5) ; $T^\circ_{\text{décomposition}}$: 180 °C (non cristallisé) ; IR : 3282 (CH alcyne), 2125 (N_3) ; RMN- ^1H (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, 22.6 °C) : δ (ppm) = 7.29 – 7.15 (m, 5H, 5 x H_{arom}), 5.12 (t, 1H, $^3J = 5.21$ Hz, NH_{prop}), 6.31 (d, 1H, $^3J = 8.51$ Hz, NH_{PHE}), 5.42 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.58$ Hz, H_4), 5.22 (t, 1H, $^3J_{2,3} = ^3J_{3,4} = 9.49$ Hz, H_3), 4.94 (t, 1H, $^3J_{1,2} = ^3J_{2,3} = 9.25$ Hz, H_2), 4.68 – 4.63 (m, 2H, H_1 , CH_{PHE}), 4.21 (d, 1H, $^3J_{4,5} = 9.93$ Hz, H_5), 4.17 – 4.12 (m, 1H, CH_{PRO}), 4.10 – 3.88 (m, 2H, $\text{CH}_{2,\text{prop}}$), 3.76 – 3.62 (m, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 3.22 – 3.13 (m, 2H $\text{CH}_{2,\text{PHE}}$), 2.12 (sl, 1H, CH_{prop}), 2.11 – 2.00 (m, 4H, COCH_3 , $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 2.00 – 1.95 (m, 5H, COCH_3 , $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 1.94 (s, 3H, COCH_3), 1.93 – 1.86 (m, 1H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}$) ; RMN- ^{13}C (151 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ (ppm) = 171.4, 171.0, 170.9, 169.8, 169.7 (3 x COCH_3 , 2 x CONH), 165.2 (C_6), 137.4

(C_{arom}), 129.9, 129.3, 127.6 (5 x CH_{arom}), 89.2 (C_1), 80.5 ($CH_2C\equiv CH$), 75.4 (C_5), 73.0 (C_3), 71.6 ($CH_2C\equiv CH$), 70.8 (C_2), 69.2 (C_4), 62.2 (CH_{PRO}), 54.8 (CH_{PHE}), 48.0 ($NCH_2CH_2CH_2CH$), 37.4 ($CH_{2,\text{PHE}}$), 29.8 ($CH_{2,\text{prop}}$), 28.8 ($NCH_2CH_2CH_2CH$), 25.9 ($NCH_2CH_2CH_2CH$), 21.3, 21.2, 21.2 (3 x $COCH_3$) ; **ESI-SMHR** : m/z calculée pour $C_{29}H_{34}N_6O_{10}$ $[M+H]^+$: 627.2409, obtenue : 627.2404 et $[M+Na]^+$: 649.2229, obtenue : 649.2226.

Composé 104



La procédure générale B est répétée ici, mais en utilisant une concentration réactionnelle de 0.0010M et en démarrant avec 2.0 mg du substrat **93** (vial de 2 – 5 mL). **ESI-SMHR** : m/z calculée pour $C_{29}H_{34}N_6O_{10}$ $[M+H]^+$: 627.2409, obtenue : 627.2407 ; **CL-SM** : t (min) = 7.84 (120190, dimère linéaire), 8.03 (2824208, monomère cyclique).

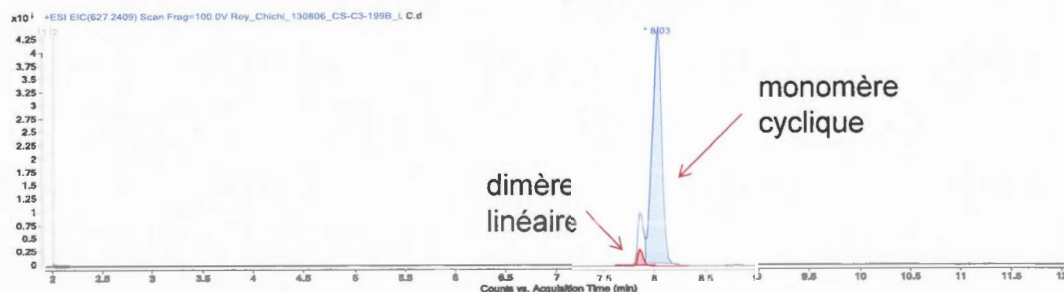
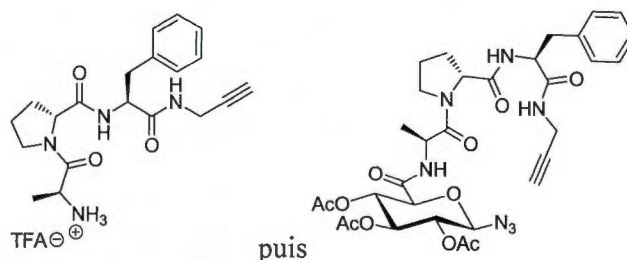


Figure 7.15

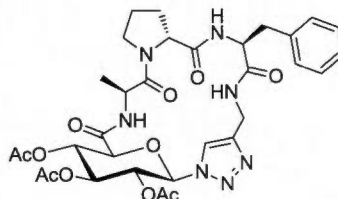
Chromatogramme CL-SM de la cyclisation de **93** (**104**).

***N*-(L-Ala-D-Pro-L-Phe-propargylamide)-2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-azido-1-désoxy- β -D-glucopyranuramide (94)**



La procédure générale A est reproduite ici, mais en débutant avec le composé **84** (311 mg, 0.661 mmol) pour la première étape et **61** (251 mg, 0.727 mmol, 1.10 éq.) pour la deuxième. Le composé **94** est obtenu après purification sur silice (DCM/MeOH 100 : 0 à 98 : 2). Un rendement (non optimisé) sur 2 étapes de 8% est obtenu, soit une masse de 36.9 mg (0.0529 mmol). R_f : 0.25 (DCM/MeOH 95 : 5) ; $T^\circ_{\text{décomposition}}$: 190 °C (non cristallisé) ; **IR** : 3230 (CH alcyne), 2124 (N₃) ; **RMN-¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆, 22.6 °C)** : δ (ppm) = 7.32 – 7.17 (m, 6H, 5 x H_{arom} , NH_{prop}), 7.08 (d, 1H, $^3J = 6.61$ Hz, NH_{ALA}), 6.71 (d, 1H, $^3J = 8.39$ Hz, NH_{PHE}), 5.26 (t, 1H, $^3J_{2,3} = ^3J_{3,4} = 9.49$ Hz, H_3), 5.15 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.76$ Hz, H_4), 4.94 (t, 1H, $^3J_{1,2} = ^3J_{2,3} = 9.17$ Hz, H_2), 4.73 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 8.89$ Hz, H_1), 4.64 – 4.57 (m, 1H, CH_{PHE}), 4.57 – 4.53 (m, 1H, CH_{ALA}), 4.27 – 4.23 (m, 1H, CH_{PRO}), 4.11 – 4.05, 3.96 – 3.90 (2 x m, 2 x 1H, $CH_{2,\text{prop}}$), 3.93 (d, 1H, $^3J_{4,5} = 9.92$ Hz, H_5), 3.78 – 3.72, 3.49 – 3.43 (2 x m, 2 x 1H, $NCH_2CH_2CH_2CH$), 3.27 – 3.18 (m, 2H, $CH_{2,\text{PHE}}$), 2.24 (t, 1H, $^3J = 2.51$ Hz, CH_{prop}), 2.13 – 2.07 (m, 2H, $NCH_2CH_2CH_2CH$), 2.09, 2.06, 2.02 (3 x s, 3 x 3H, 3 x $COCH_3$), 1.35 (d, 3H, $^3J = 6.87$ Hz, $CH_{3,\text{ALA}}$) ; **RMN-¹³C (151 MHz, DMSO-*d*₆)** : δ (ppm) = 172.2, 172.1, 171.2, 170.5, 170.4, 169.9 (3 x $COCH_3$, 3 x $CONH$), 166.3 (C_6), 137.6 (C_{arom}), 129.9, 129.3, 127.6 (5 x CH_{arom}), 88.7 (C_1), 80.7 ($CH_2C\equiv CH$), 74.7 (C_5), 72.5 (C_3), 71.6 ($CH_2C\equiv CH$), 71.2 (C_2), 69.6 (C_4), 61.6 (CH_{PRO}), 55.1 (CH_{PHE}), 48.0 ($NCH_2CH_2CH_2CH$), 47.8 (CH_{ALA}), 37.2 ($CH_{2,\text{PHE}}$), 29.9 ($CH_{2,\text{prop}}$), 29.2 ($NCH_2CH_2CH_2CH$), 25.5 ($NCH_2CH_2CH_2CH$), 21.4, 21.2 (3 x $COCH_3$), 17.8 ($CH_{3,\text{ALA}}$) ; **ESI-SMHR** : m/z calculée pour $C_{32}H_{39}N_7O_{11}$ $[M+H]^+$: 698.2780, obtenue : 698.2791 et $[M+Na]^+$: 720.2600, obtenue : 720.2611.

Composé 105



La procédure générale B est répétée ici, mais en utilisant une concentration réactionnelle de 0.0010M et en démarrant avec 2.0 mg du substrat **94** (vial de 2 – 5 mL).
ESI-SMHR : m/z calculée pour $C_{32}H_{39}N_7O_{11}$ $[M+H]^+$: 698.2780, obtenue : 698.2781 ; **CL-SM** : t (min) = 7.38 (4736518, monomère linéaire), 8.25 (5686371, monomère cyclique).

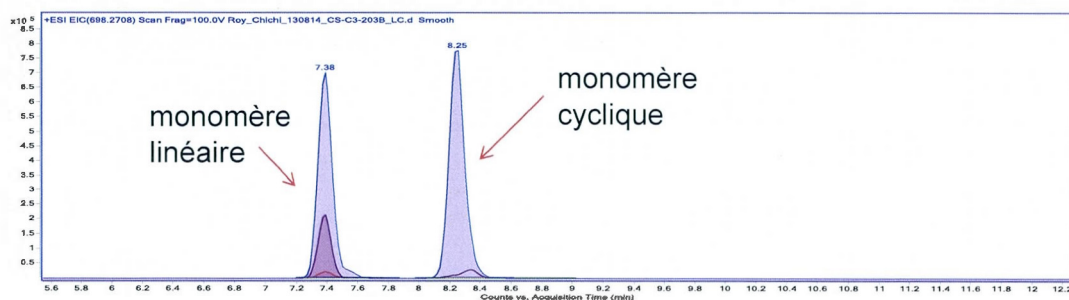


Figure 7.16 Chromatogramme CL-SM de la cyclisation de **94** (**105**).

ANNEXE A

Tableau des aires des signaux des CL-SM

Tableau A.1 Aires des signaux des chromatogrammes CL-MS

			Aire sous les signaux des chromatogrammes					
Molécule	AA impliqué	Conc (M)	Mono-linéaire	Di-linéaire	Mono-cyclique	Di-cyclique	Autres	Total
Série Ala-Phe								
95	<i>L-Phe</i>	0.1	0	0	0	100	2.09	102.09
97a-1	<i>L-Ala-L-Phe</i>	0.1	0	0	5.86	100	68.95	174.81
97a-2			0	0	10.39	100	1.34	111.73
97a total	<i>L-Ala-L-Phe</i>	0.1	0	0	16.25	200	70.29	286.54
97b	<i>L-Ala-L-Phe</i>	0.01	2957520	2821280	15606934	5428955	402224	27216913
97c	<i>L-Ala-L-Phe</i>	0.001	2652672	435143	10625649	609796	61642	14384902
100a	<i>D-Ala-L-Phe</i>	0.001	1418351	457749	8714974	27953	211304	10830331
101a	<i>L-Ala-D-Phe</i>	0.001	2150505	677961	8901154	24203	201846	11955669
97d	<i>L-Ala-L-Phe</i>	0.0001	111817	1414	3320093	1649	0	3434973
100b	<i>D-Ala-L-Phe</i>	0.0001	0	1665	2862273	14891	0	2878829
101b	<i>L-Ala-D-Phe</i>	0.0001	45	0	2264962	461	0	2265468
99	<i>L-Ala-L-Ala-D-Phe</i>	0.01	8432713	2696091	16335716	1758686	771112	29994318
Série (Ala-)Pro-Phe								
102a	<i>L-Pro-L-Phe</i>	0.01	570581	0	8130320	346216	258885	9306002
102b	<i>L-Pro-L-Phe</i>	0.001	192116	0	3881863	34942	14270	4123191
104	<i>D-Pro-L-Phe</i>	0.001	0	120190	2814108	0	0	2934298
103	<i>L-Ala-L-Pro-L-Phe</i>	0.001	7516105	1006897	7037469	0	286531	15847002
105	<i>L-Ala-D-Pro-L-Phe</i>	0.001	4736518	0	5686371	0	0	10422889

LISTE DES RÉFÉRENCES

- Achen, M.G. et al., *United States Patent, No. US 7,045,133 B2*, **2006**, 25 pages.
- Bastiaans, H.M.M., Van der Baan, J.L., Ottenheljm, H.C.J., *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 3880-3889.
- Bock, V.D., Perciaccante, R., Jansen, P., Hiemstra, H., Van Maarseveen, J.H., *Org. Lett.*, **2006**, 8, 919-922.
- Campbell, N.A., Reece, J.B., *Biologie*, Deuxième édition, Éditions du renouveau pédagogique inc., St-Laurent, **2004**, 1490 pages.
- Cantrell, C.L., Dayan, F.E., Duke, S.O., *J. Nat. Prod.* **2012**, 75, 1231-1242. Seward, N., *Beilstein J. Org. Chem.*, **2012**, 8, 1144-1145.
- Chandrasekhar, S., Raji Reddy, C., Jagadeeshwar, R., *Tetrahedron*, **2001**, 57, 3435-3438.
- Chouhan, G., James, K., *Org. Lett.*, **2011**, 13, 2754-2757.
- Clayden, J. et al., *Org. Lett.*, **2010**, 12, 2222-2225.
- Cochrane, J.R., Hee Yoon, D., McErlean, C.S.P., Jolliffe, K.A., *Beilstein J. Org. Chem.*, **2012**, 8, 1344-1351.
- Deguisse, I., Lagnoux, D., Roy, R., *New J. Chem.*, **2007**, 31, 1321-1331.
- Fani, M., Maecke, H.R., Okarvi, S.M., *Theranostics*, **2012**, 2, 481-501.
- Finn, M.G., Fokin, V.V., *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, 39, 1231-1232 et les articles thématiques de l'édition spéciale sur la chimie *click* (pages 1233-1408).
- Fry, E.M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, 77, 3915-3916.
- Gademann, K., Ernst, M., Hoyer, D., Seebach, D., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1999**, 38, 1223-1226.
- Giguère, D., Patnam, R., Bellefleur, M.-A., St-Pierre, C., Sato, S., Roy, R., *Chem. Comm.*, **2006**, 22, 2379-2381.
- Gruner, S.A., Kéri, G., Schwab, R., Venetianer, A., Kessler, H., *Org. Lett.*, **2001**, 3, 3723-3725.
- Gütschow, M. et al., *J. Med. Chem.*, **2005**, 48, 7688-7707.

- Haag, T., Hughes, R.A., Ritter, G., Schmidt, R.R., *Eur. J. Org. Chem.*, **2007**, 6016-6033.
- Heany, F., *Eur. J. Org. Chem.*, **2012**, 3043-3058.
- Hein, J.E., Fokin, V.V., *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, 39, 1302-1315.
- Jia, G., Fokin, V.V. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 15998-15999.
- Joullié, M.M. et al., *Org. Lett.*, **1999**, 1, 1319-1322.
- Jung, M.E., Piizzi, G., *Chem. Rev.*, **2005**, 105, 1735-1766.
- Katritzky, A.R. et al., *Beilstein, J. Org. Chem.*, **2012**, 8, 1146-1160.
- Kessler, H. et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, 39, 2761-2764.
- Kessler, H. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, 105, 6944-6952.
- Kessler, H. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 10156-10167.
- Kessler, H. et al., *Org. Lett.*, **2001**, 3, 3723-3725.
- KiKelj, D. et al., *J. Org. Chem.*, **2001**, 66, 7044-7050.
- Kunwar, A.C. et al., *J. Org. Chem.*, **2008**, 73, 8731-8744.
- Lambert, J.N., Mitchell, J.P., Roberts, K.D., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2001**, 471-484.
- Li, W.R., Ewing, W.R., Harris, B.D., Joullié, M.M., *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 7659-7672.
- McAlpine, S.R. et al., *J. Org. Chem.*, **2007**, 72, 1980-2002.
- Monflier, E. et al., *Carbohydr. Res.*, **2011**, 346, 210-218.
- Murphy, P.V., *Chem. Eur. J.*, **2007**, 13, 902-909.
- Murphy, P.V. et al., *J. Org. Chem.*, **2005**, 70, 4096-4106.
- Overhand, M. et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, 13, 331-334.
- Overhand, M. et al., *J. Org. Chem.*, **2004**, 69, 7851-7859.
- Overhand, M. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 7559-7565.
- Pedersen, D.S., Abell, A., *Eur. J. Org. Chem.*, **2011**, 2399-2411.
- Ravindranathan Kartha, K.P., Field, R.A., *Tetrahedron*, **1997**, 53, 11753-11766.
- Risseuw, M.D.P., Overhand, M., Fleet, G.W.J., Simone, M.I., *Amino Acids*, **2013**, 45, 613-689.
- Risseuw, M.D.P., Overhand, M., Fleet, G.W.J., Simone, M.I., *Tetrahedron : Asymmetry*, **2007**, 18, 2001-2010.
- Rothe, M., Steffen, K.D., Rothe, I., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1965**, 4, 356.

- Rückle, T., de Lavallaz, P., Keller, M., Dumy, P., Mutter, M., *Tetrahedron*, **1999**, 55, 11281-11288.
- Schjoth-Eskesen, C., Jensen, H.H., *Synthetic Communications*, **2009**, 39, 3243-3253.
- Solomons, T.W.G., Fryhle, C.B., *Organic Chemistry*, Collection John Wiley and sons, 9^e édition, **2008**, 1288 pages, page 385.
- Temelkoff, D., Zeller, M., Norris, P., *Carbohydrate Research*, **2006**, 341, 1081-1090.
- Tonelli, A.E., *J. Am. Chem. Soc.*, **1973**, 95, 5946-5948.
- Tripathi, R.P. et al., *Org. Lett.*, **2012**, 14, 4306-4309.
- Turner, C.E., Elsohly, M.A., Boeren, E.G., *J. Nat. Prod.* **1980**, 43, 169-234.
- Van Boom, J.H. et al., *Chem. Eur. J.*, **1997**, 3, 920-929.
- Van Maarseveen, J.H. et al., *Eur. J. Org. Chem.*, **2008**, 2592-2600.
- Voet, D., Voet, J.G., *Biochimie*, Deuxième édition, De Bock Université, Belgique, **2005**, 1602 pages.
- Wang, S. et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, 20, 3043-3046.
- White, C.J., Yudin, A.K., *Nature Chemistry*, **2011**, 3, 509-524.
- William Reusch, 2013, *NMR Topics, Supplemental NMR Topics*, En ligne, <<http://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virttxtjml/spectrpy/nmr/nmr2.htm>>, consulté en avril 2013.
- Worrell, B.T., Malik, J.A., Fokin, V.V., *Science*, **2013**, 340, 457-460.
- Yu, X., Sun, D., *Molecules*, **2013**, 18, 6230-6268.
- Zimmerman, R., *La médecine nucléaire : La radioactivité au service du diagnostic et de la thérapie*, EDP sciences, France, **2006**, 178 pages.